

ACTH

MODALITA' DI RICHIESTA:

Pazienti interni: tramite modulo interno prestampato.

Pazienti esterni: tramite richiesta del medico curante.

PREPARAZIONE DEL PAZIENTE ALL'ESAME:

Il paziente deve trovarsi in condizioni basali dopo un digiuno di circa 10 ore.

MODALITA' DI RACCOLTA DEL CAMPIONE:

- Prelievo venoso.
- Utilizzo del sistema sottovuoto o di siringa monouso o butterfly.
- Utilizzo provetta con EDTA (tappo viola) in ghiaccio.

MODALITA' DI TRASPORTO DEL CAMPIONE:

Pazienti interni: da ogni stanza i campioni sono portati da un infermiere in un contenitore adeguato in laboratorio.

Pazienti esterni: dalla sala prelievi (attigua al laboratorio) i campioni, attraverso l'apposita finestra, sono consegnati al laboratorio.

Vedi procedura.

MODALITA' DI CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE:

La provetta madre dopo essere stata processata è conservata tra 2° e 8°C per 6 giorni

Se il campione non può essere processato subito, il surnatante è raccolto mediante pipetta monouso in una provetta di plastica tappata, su cui è applicata l'etichetta con codice a barre, e conservata secondo le modalità previste dalla metodica descritta nella scheda tecnica. Evitare congelamenti ripetuti.

FASE PRE-ANALITICA:

Sulla provetta madre è posta un'etichetta con codice a barre che permette la trasmissione bidirezionale dei dati (esami richiesti e relativi risultati) tra il PC dello strumento e il PC gestionale.

La provetta madre è centrifugata a 3750 rpm per 8 minuti.

FASE ANALITICA:

La provetta madre è posizionata sul rack porta campioni dello strumento LIAISON XL dalla preanalitica COBAS p 312, che provvede alla registrazione del check-in e quindi processata secondo le modalità analitiche previste.

FASE POST-ANALITICA:

I dati ottenuti vengono validati tecnicamente poi clinicamente e quindi firmati digitalmente.

CRITERI DI VALIDAZIONE DEL DATO ANALITICO:

Analisi dei controlli qualità interni secondo le regole di Westgard e controlli qualità esterni (VEQ).

VALORI PANICO:

Non applicabile.

CARATTERISTICHE E DESCRIZIONE DEL METODO:

Principio sandwich.

Prima incubazione: 50 µL di campione, un anticorpo monoclonale biotinilato specifico anti-ACTH e un anticorpo monoclonale specifico anti-ACTH marcato con un complesso di rutenio) reagiscono formando un complesso sandwich.

Seconda incubazione: dopo l'aggiunta di microparticelle rivestite di streptavidina, il complesso si lega alla fase solida mediante l'interazione biotina-streptavidina.

La miscela di reazione viene aspirata nella cella di misura dove le microparticelle vengono attratte magneticamente alla superficie dell'elettrodo. Successivamente si eliminano le sostanze non legate impiegando ProCell/ProCell M. Applicando una tensione all'elettrodo, si induce l'emissione chemiluminescente che viene misurata mediante il fotomoltiplicatore.

I risultati vengono calcolati in base ad una curva di calibrazione, che viene generata in modo specifico per lo strumento con una calibrazione a 2 punti e con una curva master fornita insieme al codice a barre del reattivo.

PRECISIONE, ACCURATEZZA E SENSIBILITA':

Vedi scheda tecnica.

INTERFERENZE:

Vedi scheda tecnica.

SIGNIFICATIVITA' (VARIABILITA' ANALITICA E VARIABILITA' BIOLOGICA)

VA: vedi scheda tecnica. CV: intra serie da 2.2 a 7.5, inter serie da 3.2 a 9.5. VB:22.6%.

COMPILAZIONE, TRASMISSIONE E CONSEGNA REFERTI:

I risultati, dopo la validazione tecnica sono controllati e validati clinicamente per poi essere firmati digitalmente dal responsabile del laboratorio o da chi ne fa le veci.

Dopo la firma digitale i referti sono disponibili on line per essere visionati dai reparti se i pazienti sono interni.

Per i pazienti esterni i referti possono essere stampati su richiesta alla segreteria o sono accessibili via internet tramite l'utilizzo dell'apposito codice rilasciato al momento dell'accettazione del paziente dalla segreteria.

PRINCIPALI CRITERI INTERPRETATIVI

L'estradiolo è secreto principalmente dai follicoli ovarici durante il ciclo mestruale e, durante la gravidanza, dalla placenta . E' inoltre prodotto, seppure in quantità inferiori, dalle ghiandole surrenali, dai testicoli e dalla conversione periferica degli androgeni. La sintesi e la secrezione dell'estradiolo sono strettamente controllate dall'asse ipotalamo-ipofisi, con l'intermediazione del LH-RH, del LH e del FSH.

Nel caso di sospetta ipofertilità, sia maschile che femminile, la determinazione dell'estradiolo, del LH, del FSH e del progesterone permette di valutare l'integrità dell'asse ipotalamo-ipofisario.

Il dosaggio dell'estradiolo, abbinato a LH e FSH e progesterone, permette di confermare la menopausa.

TEMPO DI ATTESA PER L'ESAME:

Uguale o inferiore a 8 ore.

23/09/15

Modifiche: § 16
Soppressioni: -

LIAISON® ACTH (REF 313221)

1. FINALITÀ DEL TEST

Il test LIAISON® ACTH impiega la tecnologia dell'immunodosaggio in chemiluminescenza (CLIA, chemiluminescent immunoassay) per la determinazione quantitativa *in vitro* dell'ormone adrenocorticotropo in campioni di plasma umano ottenuto con EDTA (conservato congelato). La determinazione dell'ACTH, valutata insieme ai risultati di altri test di laboratorio e ai riscontri clinici, può essere di ausilio nello studio delle patologie surrenali nell'uomo. Il test è stato sviluppato per l'esecuzione sulla serie LIAISON® Analyzer.

2. SIGNIFICATO CLINICO

L'ormone adrenocorticotropo o corticotropina (ACTH) è un polipeptide formato da 39 residui aminoacidici, secreto dall'ipofisi anteriore (1, 2). L'ACTH stimola la corteccia surrenale a secernere gli ormoni glucocorticoidi, come il cortisolo, ed esercita un certo controllo sulla secrezione di aldosterone, l'altro importante ormone steroideo secreto dalla corteccia del surrene.

L'ipotalamo controlla la secrezione ipofisaria di ACTH attraverso il fattore di rilascio della corticotropina (CRH), un peptide formato da 41 residui aminoacidici che viene rilasciato in risposta al dolore, all'ansia e allo stress con la mediazione di neurotrasmettitori. La secrezione di CRH è inibita dai glucocorticoidi attraverso un classico meccanismo di feedback negativo (2). Il cortisolo esercita inoltre un controllo a feedback negativo sulla secrezione di ACTH a livello ipofisario e ipotalamico.

La secrezione di corticotropina segue un ritmo circadiano controllato da vari fattori, tra cui la luce. Le condizioni che si sono dimostrate in grado di alterare il normale ritmo di secrezione diurna includono la sindrome di Cushing e la secrezione ectopica di ACTH, nonché lo stress fisiologico e gli interventi chirurgici (3, 4). Le variazioni della secrezione che si verificano durante il giorno sono ben note: la frequenza dei picchi secretori di ACTH aumenta dopo tre-cinque ore di sonno e raggiunge un massimo prima del risveglio e nell'ora successiva al risveglio. A causa di queste variazioni diurne, i campioni di plasma per il dosaggio dell'ACTH vengono solitamente prelevati tra le 8:00 e le 10:00 del mattino. Poiché negli individui affetti da malattia di Cushing non è presente tale ritmo di secrezione diurna, la discriminazione di questi pazienti dai soggetti normali può essere effettuata in modo ottimale utilizzando campioni prelevati di sera (tra le 22:00 e mezzanotte).

All'interno dell'ipofisi, l'ACTH viene sintetizzato attraverso una via che porta alla formazione di vari altri ormoni. Il precursore dell'ACTH è una grossa proteina chiamata pro-opiomelanocortina (POMC) che, dopo essere stata sintetizzata, viene scissa per via proteolitica in frammenti che includono anche la lipotropina (precursore della beta-endorfina e della met-enkefalina) e l'ormone melanocita-stimolante (MSH).

La determinazione dei livelli plasmatici di ACTH è utile per la diagnosi delle patologie dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene.

Si riscontra un aumento dei livelli di ACTH in	Si riscontra una riduzione dei livelli di ACTH in
Malattia di Cushing ipofisaria (ipercortisolismo secondario)	Adenoma surrenale (sindrome di Cushing primaria)
Morbo di Addison (ipocortisolismo)	Insufficienza surrenale secondaria
Tumori autonomi secernenti ACTH (sindrome da ACTH ectopico)	

La patologia più diffusa che coinvolge gli ormoni glucocorticoidi è la sindrome di Cushing secondaria o ipercorticosurrenalismo, in cui i livelli di ACTH sono aumentati. Le cause più comuni della sindrome di Cushing, una volta esclusa la somministrazione di glucocorticoidi a scopi terapeutici, sono rappresentate dall'iperplasia surrenale bilaterale (chiamata malattia di Cushing e dovuta a ipersecrezione ipofisaria di ACTH) e dall'adenoma ipofisario o iperplasia corticotropa.

La diagnosi di laboratorio della malattia di Cushing viene effettuata sulla base di test di stimolazione o di soppressione quali la somministrazione di dosi elevate di desametasone (soppressione della secrezione di ACTH e di cortisolo), la somministrazione di basse dosi di desametasone, l'aumento della risposta del cortisolo al metirapone e la presenza di livelli di ACTH normali o elevati.

Un'altra condizione in cui i livelli di ACTH risultano aumentati è la sindrome di Nelson, una patologia piuttosto rara che si manifesta nel 15-25% dei soggetti sottoposti a surrenectomia per il trattamento della malattia di Cushing. La sindrome è caratterizzata da secrezione ormonale abnorme, ingrossamento dell'ipofisi e sviluppo di grandi adenomi a carattere invasivo.

Oltre che in conseguenza di iperfunzione della corteccia del surrene, i livelli di ACTH possono essere alterati anche a causa di insufficienza surrenale (ipocortisolismo). In questi casi la sola determinazione dei livelli di cortisolo non è sufficiente per consentire la differenziazione tra cause primarie di insufficienza surrenale (dovuta a morbo di Addison) e cause secondarie. La determinazione dell'ACTH è utile in questi casi per comprendere meglio il tipo reale di patologia.

Patologia	Livelli di cortisolo	Livelli di ACTH
Malattia di Cushing (tumore ipofisario secernente ACTH)	alti	alti
ACTH "ectopico" (ACTH secreto da un tumore extra-ipofisario)	alti	alti
Tumore surrenale	alti	bassi
Morbo di Addison (danno surrenale)	bassi	alti
Ipopituitarismo	bassi	bassi

3. PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il metodo per la determinazione quantitativa dell'ACTH è rappresentato da un immunodosaggio “sandwich” in chemiluminescenza. Un anticorpo monoclonale murino specifico (diretto contro il segmento N-terminale dell'ACTH) è adeso a particelle magnetiche (fase solida); un altro anticorpo monoclonale (diretto contro il segmento C-terminale dell'ACTH) è legato a un derivato dell'isoluminolo (coniugato anticorpo-isoluminolo). Durante l'incubazione, l'ACTH presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli si lega all'anticorpo monoclonale di fase solida e, successivamente, l'anticorpo coniugato reagisce con l'ACTH già legato alla fase solida. Dopo l'incubazione, il materiale non legato viene rimosso mediante un ciclo di lavaggio.

In seguito, vengono aggiunti i reagenti starter che inducono una reazione di chemiluminescenza. Il segnale luminoso, e quindi la quantità di coniugato anticorpo-isoluminolo, viene misurato da un fotomoltiplicatore in unità relative di luce (RLU, relative light units) ed è indicativo della concentrazione di ACTH presente nei calibratori, nei campioni o nei controlli.

4. MATERIALI FORNITI

L'ordine dei reattivi riflette quello con cui sono assemblati i contenitori nell'integrale di reattivi.

Contenuto dell'integrale di reattivi per 100 determinazioni		
2,3	mL	SORB Fase solida: contenente particelle magnetiche rivestite con anticorpo monoclonale anti-ACTH (topo), sieroalbumina bovina (BSA), 0,09% di sodio azide
23,0	mL	CONJ Coniugato: contenente anticorpo monoclonale anti-ACTH (topo) marcato con isoluminolo, sieroalbumina bovina (BSA), 0,09% di sodio azide

Il coniugato e le particelle magnetiche sono forniti pronti per l'uso.

Nell'integrale sono inclusi

3	x	1,5	mL	CAL1	Calibratore 1, basso: contenente ACTH umano in soluzione di albumina sierica umana, 0,09% di sodio azide
3	x	1,5	mL	CAL2	Calibratore 2, alto: contenente ACTH umano in soluzione di albumina sierica umana, 0,09% di sodio azide
8	x	bianca		CAL1 Etichetta codice a barre, piccola	Per etichettare le provette dei calibratori aliquotati
8	x	bianca		CAL2 Etichetta codice a barre, piccola	Per etichettare le provette dei calibratori aliquotati

I calibratori sono forniti liofilizzati.

Materiali richiesti, ma non forniti (relativi al sistema)

LIAISON® XL Analyzer	LIAISON® Analyzer
LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)	LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100)
LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025)	LIAISON® Waste Bags (REF 450003)
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016)	LIAISON® Module (REF 319130)
LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)	LIAISON® Starter Kit (REF 319102) o LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200)
LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015)	LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990)
	LIAISON® Light Check (REF 319101) o LIAISON® Light Check 12 (REF 319150)

Altri materiali richiesti

LIAISON® Control ACTH (REF 319132)
LIAISON® Endocrinology Diluent (REF 319133)

5. AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Solo per uso diagnostico *in vitro*.
Tutti i materiali di origine umana utilizzati per la fabbricazione dei componenti di questo kit sono stati analizzati e trovati non reattivi per la presenza di HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 e anti-HIV-2. Tuttavia, poiché nessun metodo di analisi può dare assoluta certezza dell'assenza di agenti patogeni, tutto il materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infettivo e manipolato come tale.

6. REGOLE DI SICUREZZA

Non mangiare, bere, fumare o applicare cosmetici durante l'esecuzione del dosaggio.
Non pipettare con la bocca.
Evitare il contatto diretto con tutto il materiale potenzialmente infetto indossando indumenti da laboratorio, occhiali protettivi e guanti monouso. Lavare accuratamente le mani al termine del dosaggio.
Evitare di provocare schizzi o aerosol. Eventuali gocce di reattivo biologico devono essere rimosse con una soluzione di sodio ipoclorito allo 0,5% di cloro attivo e i mezzi utilizzati devono essere trattati come rifiuti infetti.
Tutti i campioni e i reattivi contenenti materiali biologici utilizzati per il dosaggio devono essere considerati potenzialmente in grado di trasmettere agenti infettivi; i rifiuti devono essere maneggiati con cura e smaltiti conformemente alle linee guida del laboratorio e alle disposizioni di legge vigenti in ogni Paese.
Qualsiasi materiale da riutilizzare va appositamente sterilizzato in conformità alle leggi e alle linee guida locali.
Verificare l'efficacia del ciclo di sterilizzazione/decontaminazione.
Non utilizzare kit o componenti oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta.

Reattivi contenenti sodio azide (< 0,1%) [Numero CE: 247-852-1]:

DIRETTIVA	Numero CE 1272/2008
INDICAZIONI DI PERICOLO / FRASI DI RISCHIO	EUH 210 - Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta

7. PREPARAZIONE DEI REATTIVI

7.1. Integrale di reattivi

Rispettare le seguenti precauzioni, importanti per la manipolazione dei reattivi:

Risospensione delle particelle magnetiche

Le particelle magnetiche devono essere completamente risospese prima di posizionare l'integrale sullo strumento. Seguire le fasi di seguito indicate per accertarsi che la sospensione sia completa.

Prima di rimuovere la pellicola protettiva, ruotare la rotellina sullo scomparto delle particelle magnetiche finché la sospensione non diventa marrone. Un'accurata e delicata miscelazione da lato a lato può favorire la sospensione delle particelle magnetiche (evitare la formazione di schiuma). Controllare visivamente il fondo del flaconcino delle particelle magnetiche per accertarsi che tutte le particelle magnetiche sedimentate siano state risospese. Se necessario, ripetere il procedimento finché non è avvenuta la completa risospensione delle particelle magnetiche. Dopo aver rimosso la pellicola protettiva, asciugare accuratamente la superficie di ciascun setto per eliminare l'eventuale liquido residuo.

Formazione di schiuma nei reagenti

Per ottenere prestazioni ottimali dell'integrale, evitare che si formi schiuma nei reagenti. A tal fine rispettare le raccomandazioni di seguito riportate. Controllare visivamente i reagenti, in particolare i calibratori, per accertare l'assenza di schiuma prima di utilizzare l'integrale. In presenza di schiuma dopo la risospensione delle particelle magnetiche, collocare l'integrale sullo strumento e attendere che la schiuma sia scomparsa. L'integrale è pronto per l'uso quando la schiuma è scomparsa e l'integrale rimane a bordo in miscelazione.

Caricamento dell'integrale nell'area reagenti

LIAISON® Analyzer

Posizionare l'integrale nell'area reagenti dell'analizzatore con l'etichetta dei codici a barre rivolta verso sinistra e lasciare riposare per 30 minuti prima dell'uso. In questo intervallo di tempo l'analizzatore agita automaticamente le particelle magnetiche e ne assicura una completa risospensione. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

LIAISON® XL Analyzer

LIAISON® XL Analyzer è dotato di un dispositivo magnetico a stato solido integrato, che favorisce la dispersione delle microparticelle prima del caricamento dell'integrale di reattivi nell'area reagenti dell'analizzatore. Per maggiori informazioni si rimanda al manuale operativo dell'analizzatore. Inserire l'integrale di reattivi nell'apertura dedicata.

Lasciare l'integrale di reattivi nel dispositivo magnetico a stato solido per almeno 30 secondi (fino a un massimo di qualche minuto). Se necessario, ripetere il procedimento.

Posizionare l'integrale nell'area reagenti dell'analizzatore con l'etichetta rivolta verso sinistra e lasciare riposare per 15 minuti prima dell'uso. In questo intervallo di tempo l'analizzatore agita automaticamente le particelle magnetiche e ne assicura una completa risospensione. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per caricare i campioni e iniziare il test.

7.2. Calibratori

I calibratori del kit LIAISON® ACTH vengono forniti liofilizzati.

Ricostituire con 1,5 mL di acqua deionizzata o distillata.

Attendere per 15 minuti a circa 18-25 °C per ottenere una completa dissoluzione.

Miscelare accuratamente i flaconi in posizione verticale eseguendo una rotazione delicata. Evitare la formazione di schiuma. Evitare qualsiasi contatto del calibratore ricostituito con la chiusura e il tappo a vite.

I valori assegnati ai calibratori possono variare fra i vari tipi di LIAISON® Analyzer.

Se necessario, aliquotare i calibratori come indicato al paragrafo 8 e applicare sulle provette le etichette bianche piccole fornite in dotazione.

Per l'uso dettagliato dei calibratori, fare riferimento al manuale operativo dello strumento.

Per la conservazione dei calibratori dopo la ricostituzione, fare riferimento al paragrafo 8.

7.3. Controlli

Fare riferimento alle istruzioni per l'uso del set di controlli LIAISON® ACTH per preparare e manipolare i controlli adeguatamente.

8. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REATTIVI

8.1. Integrale di reattivi

Sigillato: stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza.

Aperto a bordo dello strumento o a 2-8 °C: stabilità di 2 settimane (vedere paragrafo 12).

Dopo questo intervallo di tempo, è possibile continuare a usare l'integrale di reattivi purché i controlli rimangano all'interno dei limiti attesi.

Usare sempre lo stesso LIAISON® Analyzer per un integrale di reattivi già aperto.

Non congelare.

Mantenere l'integrale di reattivi in posizione verticale durante la conservazione per facilitare la successiva adeguata risospensione delle particelle magnetiche.

Usare il supporto fornito con la serie LIAISON® Analyzer per la conservazione dell'integrale di reattivi in posizione verticale.

Tenere al riparo dalla luce diretta.

8.2. Calibratori

Liofilizzati: stabili a 2-8 °C fino alla data di scadenza.

Ricostituiti: stabili per 3 giorni se adeguatamente conservati a 2-8 °C.

Congelati: le aliquote possono essere conservate a -20 °C per 1 mese.

La molecola di ACTH in soluzione presenta una limitata stabilità al calore; non lasciare i calibratori ricostituiti a temperatura ambiente per un periodo di tempo superiore a quello richiesto per il loro utilizzo sulla serie LIAISON® Analyzer.

Immediatamente dopo la completa ricostituzione i calibratori devono essere analizzati o suddivisi in aliquote per tempi di conservazione più lunghi. Conservare i calibratori in aliquote congelate in provette di plastica o di vetro siliconato. I calibratori devono essere usati completamente nello stesso giorno dello scongelamento. Il volume minimo di un'aliquota è 600 µL (450 µL di calibratore + 150 µL di volume morto).

Ogni aliquota può essere congelata e scongelata solo 1 volta.

Durante la manipolazione dei calibratori, adottare le precauzioni necessarie per evitare la contaminazione microbica.

9. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

La molecola di ACTH si degrada rapidamente dopo il prelievo del campione; è pertanto necessario attenersi scrupolosamente alle seguenti raccomandazioni per la manipolazione dei campioni.

L'unico materiale campione validato è il plasma umano trattato con EDTA e conservato congelato.

Prelevare il sangue mediante venipuntura in provette di vetro silconato, provette vacutainer (tappo viola) o equivalente, contenenti EDTA come anticoagulante. Evitare l'emolisi. Porre immediatamente le provette in bagno di ghiaccio e tenere al freddo.

Centrifugare non più tardi di 120 minuti dal prelievo, utilizzando una centrifuga refrigerata; quindi separare e congelare immediatamente il surnatante (a una temperatura pari o inferiore a -20 °C) in provette di plastica o di vetro silconato. Il volume minimo dell'aliquota è di 300 µL.

Prima del dosaggio scongelare con cura, agitare i campioni scongelati ed eliminare le bolle d'aria eventualmente presenti. I campioni scongelati devono essere tenuti a una temperatura di 2-8 °C e usati entro 6 ore.

Non usare campioni fortemente emolizzati o lipemici, né campioni che presentano materiale in sospensione o evidente contaminazione microbica.

Non usare campioni coagulati.

Evitare cicli ripetuti di congelamento e scongelamento. Eliminare il residuo di ogni aliquota usata per il dosaggio.

Il volume minimo di campione necessario per una singola determinazione è di 300 µL (150 µL di campione + 150 µL di volume morto).

10. TARATURA

L'analisi di calibratori specifici per il dosaggio permette di utilizzare i valori RLU rilevati per adattare la curva predefinita assegnata. È possibile effettuare un numero massimo di 6 tarature (in totale).

I calibratori devono essere utilizzati solo con il lotto di integrale di reattivi a cui sono abbinati. Non utilizzare nello stesso saggio calibratori abbinati a un lotto diverso di integrale di reattivi. Per il corretto abbinamento del lotto, il numero di lotto del calibratore viene stampato anche sull'etichetta dell'integrale di reattivi.

È d'obbligo eseguire la taratura tripla in presenza di almeno una delle condizioni seguenti:

Viene usato un nuovo lotto di integrale di reattivi o di reagenti starter.

- La taratura precedente è stata eseguita più di 7 giorni prima.
- Lo strumento ha subito un intervento di assistenza tecnica.
- I valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi.

LIAISON® Analyzer: i valori dei calibratori sono memorizzati nei codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale.

LIAISON® XL Analyzer: i valori dei calibratori sono memorizzati nel transponder di identificazione a radio-frequenza (tag RFID).

11. PROCEDIMENTO OPERATIVO

Per ottenere prestazioni analitiche ideali è necessario attenersi scrupolosamente al manuale operativo dello strumento.

LIAISON® Analyzer: tutti i parametri del test vengono identificati attraverso i codici a barre riportati sull'etichetta dell'integrale di reattivi. Nel caso in cui l'etichetta con il codice a barre non possa essere letta dallo strumento, l'integrale non può essere usato. Non gettare l'integrale di reattivi; per istruzioni, contattare l'assistenza tecnica DiaSorin della propria area.

LIAISON® XL Analyzer: tutti i parametri del test vengono identificati tramite le informazioni codificate nel transponder di identificazione a radio-frequenza (tag RFID) dell'integrale di reattivi. Nel caso in cui il tag RFID non possa essere letto dallo strumento, l'integrale non può essere usato. Non gettare l'integrale di reattivi; per istruzioni, contattare l'assistenza tecnica DiaSorin della propria area.

Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.

Il LIAISON® Analyzer esegue le seguenti operazioni:

1. Dispensa il campione, il calibratore o i controlli nel modulo di reazione
2. Dispensa le particelle magnetiche rivestite (fase solida) e il coniugato
3. Esegue l'incubazione
4. Esegue il lavaggio con il liquido di lavaggio/sistema
5. Aggiunge il reagente starter e misura la luce emessa

Il LIAISON® XL Analyzer esegue le seguenti operazioni:

1. Dispensa le particelle magnetiche rivestite (fase solida) e il coniugato nella cuvetta di reazione
2. Dispensa il campione, il calibratore o i controlli
3. Esegue l'incubazione
4. Esegue il lavaggio con il liquido di lavaggio/sistema
5. Aggiunge il reagente starter e misura la luce emessa

12. CONTROLLO DI QUALITÀ

I controlli LIAISON® devono essere analizzati in singolo per valutare le prestazioni del test. Il controllo di qualità può essere effettuato con i sieri di controllo LIAISON® o con idonei controlli presenti in commercio:

- almeno una volta per ogni giorno di lavoro,
- quando si usa un nuovo integrale di reattivi,
- quando si tara il kit,
- quando si usa un nuovo lotto di reagenti starter,
- quando si determina l'adeguatezza delle prestazioni dell'integrale di reattivi aperto da più di 2 settimane,
- o secondo le disposizioni legislative e la regolamentazione vigente in ciascun paese.

I valori dei controlli devono rientrare entro i limiti attesi; ogniqualvolta i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, la taratura deve essere rieseguita e i controlli devono essere rianalizzati. Se dopo la taratura i valori dei controlli sono di nuovo al di fuori degli intervalli predefiniti, il test deve essere ripetuto usando un nuovo flacone di controllo. Se i valori dei controlli sono al di fuori dei limiti attesi, i risultati non devono essere refertati.

Le prestazioni di altri controlli devono essere valutate per assicurarne la compatibilità con questo test prima dell'uso. È indispensabile pertanto stabilire gli intervalli dei valori dei materiali usati per il controllo di qualità.

13. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lo strumento calcola automaticamente le concentrazioni di ACTH dei campioni espresse in pg/mL. Fare riferimento al manuale operativo dello strumento per informazioni più dettagliate.
I calibratori e i controlli possono produrre diversi valori RLU o diversi risultati di dosaggio su LIAISON® e LIAISON® XL, ma i risultati per il paziente sono equivalenti.

13.1. Range di dosaggio

Lo strumento calcola direttamente concentrazioni di ACTH fino a 1500 pg/mL.

Fattore di conversione:

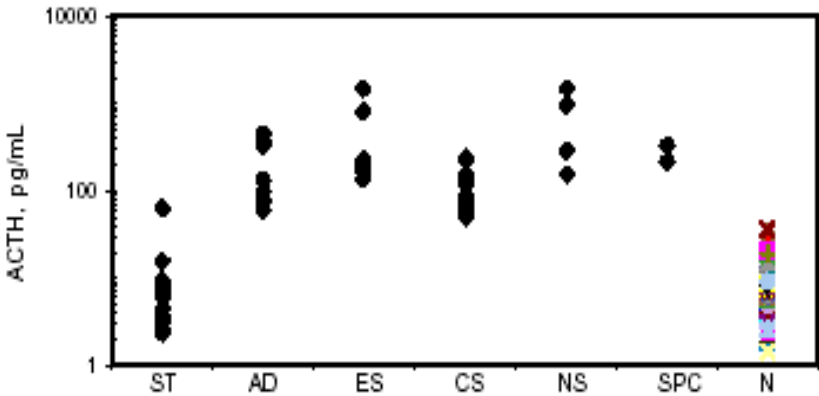
1	pg/mL	x	0,2202	=	0,2202	pmol/L
1	pmol/L	x	4,5413	=	4,5413	pg/mL

13.2. Intervallo basale di riferimento

Per valutare l'intervallo di riferimento per il kit LIAISON® ACTH è stato condotto uno studio clinico su 589 campioni prospettici, prelevati da soggetti residenti in Europa che si sono presentati al laboratorio per il dosaggio dell'ACTH. I soggetti (di sesso maschile = 270, di sesso femminile = 313, di sesso non noto = 6) sono stati classificati come normali al test eseguito con un metodo di riferimento.
Lo studio ha fornito un valore mediano di 16,3 pg/mL e valori basali di ACTH compresi tra 4,7 e 48,8 pg/mL (rispettivamente 5° e 95° percentile). Ogni laboratorio deve definire il proprio intervallo basale di riferimento.
Campioni clinici: è stato inoltre condotto uno studio clinico su 51 campioni patologici; nella tabella che segue viene mostrata l'analisi statistica per i campioni normali e per quelli patologici. Nel grafico seguente viene illustrata la correlazione dei livelli clinici ottenuti in un totale di 640 campioni prelevati da soggetti normali e da pazienti affetti da patologie ipofisarie o surrenali.

Condizione clinica	n*	Media pg/mL	D.S.** pg/mL	2,5° percentile pg/mL	Mediana 50° percentile pg/mL	97,5° percentile pg/mL	Valore minimo pg/mL	Valore minimo pg/mL
Test di soppressione con desametasone (ST)	15	10,3	15,0	2,5	6,7	46,6	2,4	63,0
Morbo di Addison (AD)	9	219,1	157,3	62,8	134,3	437,0	59,4	450,0
Sindrome da ACTH ectopico (ES)	8	424,6	489,9	143,7	187,7	1381,0	139,0	1500,0
Sindrome di Cushing (CS)	12	116,8	64,7	52,0	103,1	236,1	50,0	240,0
Sindrome di Nelson (NS)	4	729,8	625,9	165,2	632,1	1460,0	155,0	1500,0
Cateterismo del seno petroso (SPC)	3	298,1	67,7	225,9	337,1	337,3	220,0	337,0
Soggetti normali (N)	589	16,3	14,6	3,6	16,3	60,5	1,4	106,1

* numero di determinazioni ** D.S. Deviazione standard



Per le abbreviazioni (ST, AD, ES, CS, NS, SPC e N) vedere la tabella sopra riportata.

14. LIMITI DEL DOSAGGIO

I reattivi del kit devono essere usati solo nella serie LIAISON® Analyzer

I componenti singoli dell'integrale di reattivi non devono essere separati dall'integrale.

Il kit non deve essere usato dopo la data di scadenza riportata sull'etichetta esterna.

Per ottenere risultati affidabili è necessario attenersi strettamente alle istruzioni per l'uso e possedere un'adeguata manualità tecnica.

La contaminazione batterica dei campioni o l'inattivazione con il calore possono influenzare i risultati del saggio.

Tuttavia, un risultato non patologico non esclude la possibilità della presenza di patologia surrenale e deve essere valutato insieme ad altre procedure diagnostiche.

I risultati del test sono riportati in maniera quantitativa. Tuttavia, la diagnosi di una patologia surrenale non deve essere formulata sulla base del risultato di un singolo dosaggio, ma questo deve essere valutato insieme ad altri riscontri clinici e al giudizio del medico. Ogni decisione terapeutica deve essere presa caso per caso.

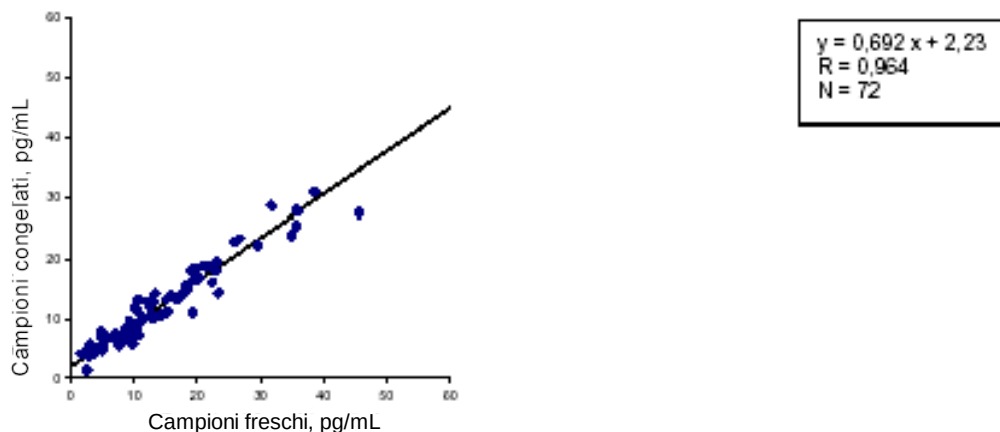
Il kit LIAISON® ACTH è stato messo a punto per la determinazione dell'analita nella sua forma intatta e inalterata. La degradazione della molecola in frammenti può alterare le caratteristiche di legame dell'anticorpo e influenzare i risultati finali. Questi campioni possono fornire risultati discordanti in diversi dosaggi, poiché gli effetti delle alterazioni dipendono dallo specifico reattivo anticorpale utilizzato.

Sebbene siano presenti agenti in grado di neutralizzare gli anticorpi anti-topo (HAMA, human anti-mouse antibodies), concentrazioni di HAMA estremamente elevate possono talvolta influenzare i risultati del dosaggio.

I campioni contenenti livelli di ACTH al di sopra dell'intervallo di dosaggio possono essere prediluiti con il diluente LIAISON® Endocrinology Diluent ([REF] 319133).

Non scambiare gli integrali di reattivi fra i diversi tipi di analizzatori (LIAISON® e LIAISON® XL). Se un integrale di reattivi è stato inserito in un particolare tipo di analizzatore, deve essere sempre utilizzato su tale strumento fino all'esaurimento. A causa dei problemi di tracciabilità legati a quanto esposto sopra, non è possibile eseguire il follow-up di pazienti fra tipi di analizzatore diversi. I follow-up devono essere eseguiti su un solo tipo di strumento (LIAISON® o LIAISON® XL).

Attenzione: il test è stato messo a punto per il dosaggio di campioni congelati di plasma ottenuto con EDTA. L'intervallo basale di riferimento e tutti i dati relativi alle prestazioni del kit sono stati ottenuti utilizzando campioni congelati di plasma ottenuto con EDTA. In caso di utilizzo di campioni freschi, ogni laboratorio deve stabilire il proprio intervallo di valori attesi. A titolo di esempio, si riporta la correlazione trovata fra i campioni freschi e i campioni congelati analizzati con il metodo LIAISON® ACTH nello studio in cui è stato stabilito l'intervallo basale di riferimento (fare riferimento al paragrafo Interpretazione dei risultati).



I campioni di sangue sono stati mantenuti al freddo per 15 minuti.

Non sono stati dosati i campioni clinici con livelli di ACTH molto elevati, al di sopra di 20.000 pg/mL. La letteratura riporta (1) dei casi di sindrome di Nelson con concentrazioni estremamente elevate di ACTH, superiori a 20.000 pg/mL. Se si sospetta questa patologia, i valori rilevati entro il range di dosaggio devono essere valutati con attenzione al fine di escludere un eventuale effetto gancio (fare riferimento al paragrafo 15.4). Si consiglia di ripetere il dosaggio dopo la diluizione del campione.

15. PRESTAZIONI METODOLOGICHE DEL KIT

15.1. Specificità analitica

La specificità analitica è definita come la capacità del test di rilevare esattamente l'analita in presenza di fattori potenzialmente interferenti nella matrice del campione (ad esempio, emolisi, lipemia, bilirubinemia).

15.2. Interferenze

Studi controllati su fattori potenzialmente interferenti hanno dimostrato che le prestazioni del test non sono influenzate da concentrazioni di bilirubina < 0,1 mg/mL, di emoglobina < 500 mg/dL o di trigliceridi < 30 mg/mL.

15.3. Reazioni crociate

La presenza delle seguenti molecole che possono potenzialmente causare reazioni crociate non ha mostrato interferenze nel dosaggio.

Molecola	Quantità aggiunta al campione, pg/mL	% Reattività crociata
ACTH (1-10)	250.000	non rilevabile
ACTH (1-24)	1.400	0,034
ACTH (18-39)	1.600	0,2
ACTH (11-24)	9.800	0,03
Alfa-MSH	3.000	0,04
Beta-MSH	2.450	0,06
Beta-endorfina	49.000	0,01
Somatostatina	9.800	0,09
Neurotensina	9.800	< 0,01
Enkefalina	9.800	< 0,01

15.4. Precisione con LIAISON® Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni con diverse concentrazioni di ACTH.

Ripetibilità (variazione intra-saggio). Per valutare la ripetibilità sono stati dosati quaranta replicati nella stessa sessione analitica.

Riproducibilità (variazione inter-saggio). Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in giorni diversi con due diversi lotti di integrale.

Variazione intra-saggio			Variazione inter-saggio		
Valore medio (pg/mL)	CV (%)	n*	Valore medio (pg/mL)	CV (%)	n*
20,4	4,9	40	46,3	8,9	20
70,2	2,6	40	262,8	5,5	20
396,7	2,7	40	880,1	7,9	20

* numero di determinazioni

15.5. Precisione con LIAISON® XL Analyzer

La ripetibilità e la riproducibilità del saggio (ossia la variabilità intra-saggio e inter-saggio) sono state determinate utilizzando dei campioni con diverse concentrazioni di ACTH.

Ripetibilità (variazione intra-saggio). Per valutare la ripetibilità sono stati dosati venti replicati nella stessa sessione analitica.

Riproducibilità (variazione inter-saggio). Per valutare la riproducibilità sono stati dosati venti replicati in 10 giorni diversi.

Variazione intra-saggio			Variazione inter-saggio		
Valore medio (pg/mL)	CV (%)	n*	Valore medio (pg/mL)	CV (%)	n*
33,7	4,3	20	23,6	5,5	20
56,8	2,4	20	57,2	3,2	20
317,2	2,7	20	255,2	2,6	20

* numero di determinazioni

15.6. Esattezza

L'esattezza del dosaggio è stata controllata mediante i test di diluizione e recupero.

15.7. Test di diluizione

Sono state dosate diluizioni scalari di campioni di plasma sia in toto, sia dopo diluizione con il diluente dei campioni. Le concentrazioni misurate di ACTH ottenute in funzione delle concentrazioni attese sono state analizzate tramite regressione lineare. I coefficienti di correlazione (r) erano compresi tra 0,993 e 1,000.

Diluizione	Valore ottenuto (pg/mL)	Valore atteso (pg/mL)	Recupero (%)
1 : 2	180,0	168,1	107
1 : 4	87,2	84,0	104
1 : 8	46,3	42,0	110
1 : 16	23,9	21,0	114

15.8. Test di recupero

Sono stati dosati campioni di plasma dopo averli addizionati con quantità crescenti di ACTH per valutare il recupero del test LIAISON® ACTH. Concentrazione iniziale del **campione 1**: 6,76 pg/mL e del **campione 2**: 60,73 pg/mL.

Campione 1			Campione 2		
Valore ottenuto (pg/mL)	Valore atteso (pg/mL)	Recupero (%)	Valore ottenuto (pg/mL)	Valore atteso (pg/mL)	Recupero (%)
123,60	119,00	104	336,9	318,9	106
95,86	96,55	99	291,7	267,3	109
76,68	74,10	103	233,0	215,6	108
49,48	51,66	96	173,7	164,0	106
27,07	29,20	93	115,8	112,4	103

15.9. Effetto gancio

L'effetto gancio ad alte dosi (HDH, high-dose hook effect) è stato determinato aggiungendo ACTH a pool di plasma umano fino a una concentrazione massima di 155.000 pg/mL. Quando si dosano campioni contenenti concentrazioni estremamente elevate di analita, è possibile ottenere dei livelli apparenti inferiori al reale per effetto gancio. La presenza di un effetto gancio è stata valutata analizzando 5 campioni addizionati con concentrazioni elevate di ACTH. Tutti i campioni hanno presentato valori di concentrazione calcolati al di sopra del range di dosaggio, indicando che la classificazione dei campioni resta corretta.

15.10. Sensibilità analitica e funzionale

Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è definita come la minima dose rilevabile di analita che può essere distinta dal punto zero, ossia 2 deviazioni standard sopra lo zero.

Sensibilità funzionale

La sensibilità funzionale è definita come la concentrazione minima di analita che può essere determinata con un coefficiente di variazione (CV) inter-saggio < 20%.

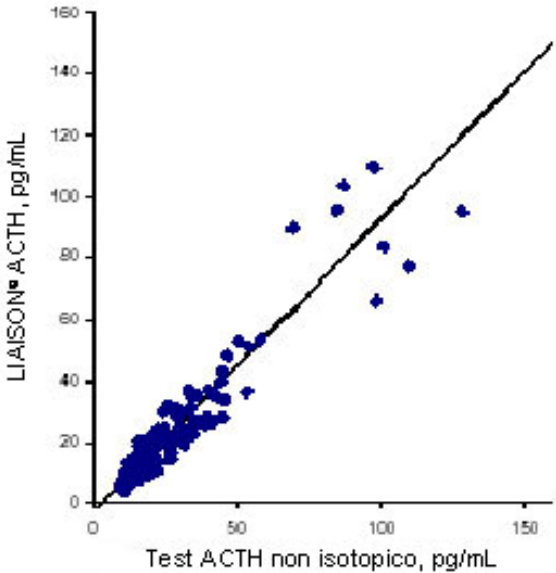
	Sensibilità analitica	Sensibilità funzionale
Serie LIAISON® Analyzer	1,6 pg/mL	3,8 pg/mL

15.11. Accuratezza

L'accuratezza del test LIAISON® ACTH è stata valutata in 118 campioni in confronto a un metodo non isotopico scelto come riferimento. È stata ottenuta la seguente correlazione:

LIAISON® ACTH = 0,894 x test ACTH non isotopico -1,32 con un coefficiente di correlazione r = 0,935.

I valori nominali dei calibratori del test LIAISON® ACTH sono stati assegnati per riflettere i dati di accuratezza riportati. Per convertire i valori dei calibratori in valori di standard internazionale WHO 74/555, è necessario impiegare un fattore di moltiplicazione di 1,85.



16. BIBLIOGRAFIA

1. Williams, Textbook of Endocrinology, 9th Edition, Saunders
2. Harrison’s Principle of Internal Medicine, XXth Edition
3. Reader, S.C.J., Alaghband-Zadeh, R. Daly and W.R. Robertson, Journal of Endocrinology, 92:443 (1982)
4. Krieger, D.T., The Medical Clinics of North America, 62:251 (1978)
5. Odell, W.D., et al., The Use of ACTH and Cortisol Assays in the Diagnosis of Endocrine Disorders