



## VALUTAZIONE ACTH CON SISTEMA TOSOH ST AIA-PACK

Anzuini A, Piccheri C, Del Prete P, Palusci S, Tahani N, Bellati P\*, Marivoet S\*, Radicioni AF

Cattedra di Endocrinologia, Laboratorio di Endocrinologia del Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, Italy

\* Tosoh Bioscience, Mktg & Scient. Dep., Torino, Italy

### INTRODUZIONE

L'ormone adrenocorticotropico (ACTH) è un polipeptide non glicosilato costituito da 39 aminoacidi ed è sintetizzato dalle cellule corticotrope dell'ipofisi anteriore. La sua funzione biologica principale è di stimolare la sintesi ed il rilascio di ormoni steroidei da parte della corteccia surrenale. Esistono in commercio numerose metodiche di dosaggio sia di tipo manuale (RIA ed ELSA) che automatico (chemiluminescenza). Scopo di questo lavoro è stato quello di valutare le performances del sistema Tosoh ST AIA-PACK e di confrontarne i risultati su una casistica di pazienti valutati con metodica immunoradiometrica (ELSA-ACTH).

### MATERIALI e METODI

**Metodica ELSA-ACTH** (CIS bio, Cedex, France) - Si basa sul principio della tecnica a sandwich su fase solida. E' costituita da un anticorpo monoclonale anti-ACTH umano, fissato sull'ELSA, specifico per la parte N-terminale, e di un secondo anticorpo monoclonale anti-ACTH radiomarcato con Iodio 125 che riconosce la parte C-terminale e viene utilizzato come tracciante.

**Metodica Immunoenzimatica fluorimetrica (FEIA)** (Tosoh Bioscience, AIA Pack, Tokio, Japan) - Utilizza una coppetta sigillata contenente la fase solida (sferette di ferrite) sulla quale è fissato il primo anticorpo anti-ACTH umano e, in forma liofila, l'anticorpo policlonale specifico marcato con 4-methylumbelliferyl phosphate (4MUP).

**Stabilità della curva** - Valutata per 5 settimane consecutive testando i 6 calibratori in duplicato.

**Ripetibilità della metodica** - Testata su tre campioni di diversa concentrazione (bassa, media e alta) in un'unica seduta giornaliera per 20 volte consecutive (Tab. 2)

**Riproducibilità della metodica** - Testata su tre campioni di diversa concentrazione (bassa, media e alta) una volta al giorno per 20 giorni consecutivi (Tab. 2)

**Confronto tra le metodiche** - Valutato mediante la retta di regressione (Fig. 1)

**Confronto tra le medie** - Valutato in soggetti sani di diversa età e sesso (Fig. 2 e Fig. 3)

**Casistica** - 120 pazienti (Tab. 1)

Range età (anni)	8-19	20-35	36-50	51-65	66-82
Numerosità	13	36	29	25	17
Sesso	8 F/5 M	27 F/9 M	22 F/7 M	19 F/6 M	13 F/4 M

Tab. 1: Soggetti normali suddivisi in 5 gruppi in base all'età

Giorno	Ripetibilità			Giorno	Riproducibilità		
	Pool 1	Pool 2	Pool 3		Pool 1	Pool 2	Pool 3
1	5,19	14,78	117,63	1	4,84	14,48	115,69
1	5,09	14,61	120,62	2	5,18	15,16	118,5
1	5,09	14,84	115,39	3	5,4	14,73	118,97
1	5,13	15,44	122,89	4	5,49	14,49	119,07
1	5,29	14,77	122,44	5	5,12	15,32	121,26
1	4,86	15,33	121,76	6	5,74	15,27	115,88
1	4,78	14,78	124,18	7	4,91	14,94	123,27
1	5,27	15,30	122,78	8	5,39	15,13	115,65
1	5,50	14,71	120,75	9	4,63	15,03	118,1
1	5,26	15,07	117,63	10	5,18	14,15	115,82
1	5,01	15,12	120,37	11	4,92	14,05	116,29
1	5,21	15,33	125,04	12	4,96	13,66	113,03
1	5,15	14,97	119,87	13	5,06	14,67	119,08
1	5,07	15,01	119,68	14	5,3	15,09	124,29
1	5,59	15,88	121,77	15	4,69	14,35	116,53
1	5,07	14,46	120,60	16	4,98	14,72	115,59
1	4,94	16,17	122,50	17	4,98	14,66	116,95
1	5,16	15,73	121,64	18	4,63	14,53	118,91
1	5,41	14,61	122,34	19	4,95	14,9	114,91
1	5,67	15,21	121,46	20	4,99	14,29	116,79
<b>Media</b>	5,19	15,11	121,07	<b>Media</b>	5,067	14,681	117,73
<b>SD</b>	0,23	0,45	2,28	<b>SD</b>	0,29	0,44	2,80
<b>%CV</b>	4,4	3,0	1,9	<b>%CV</b>	5,7	3,0	2,4

Tab 2: Calcolo del CV% inter- e intra-dosaggio

### RISULTATI

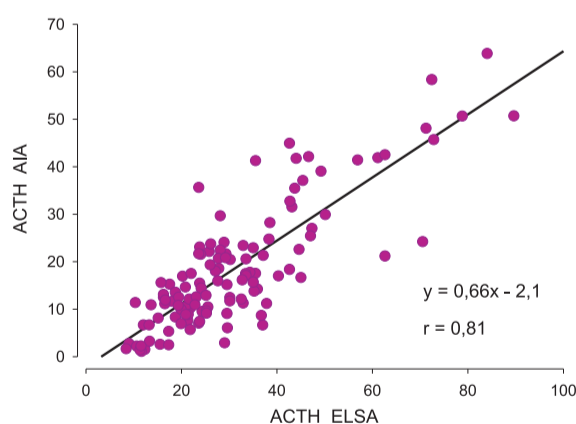


Fig. 1: Confronto tra le metodiche

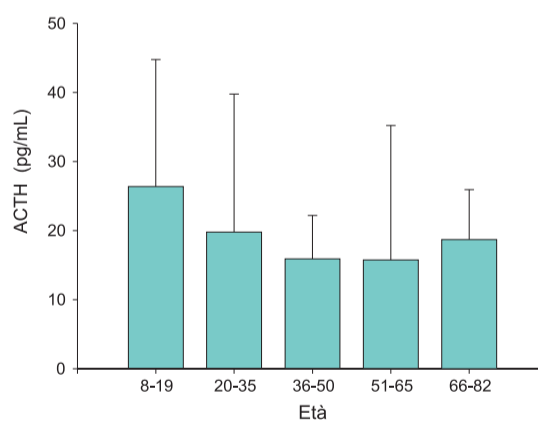


Fig. 2: Confronto tra le medie dei valori dei 5 gruppi

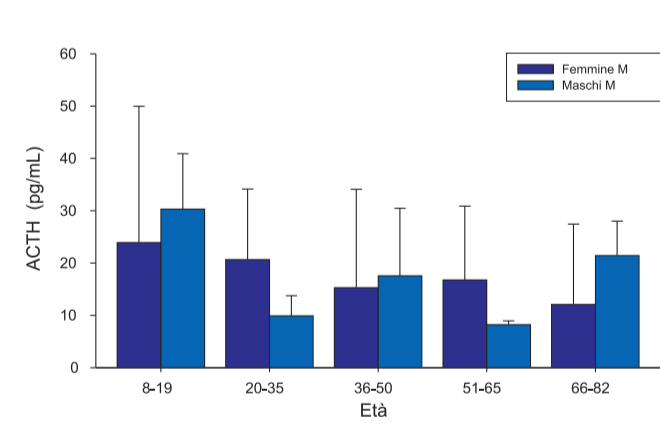


Fig. 3: Confronto tra le medie dei valori dei 5 gruppi suddivisi in base al sesso

### DISCUSSIONE

La metodica ST AIA-PACK ACTH Tosoh ha dimostrato un'ottima ripetibilità e riproducibilità con un coefficiente di variazione (CV%) inter- e intra- assay compreso fra 1,9 e 4,4% e fra 2,4 e 5,7% rispettivamente. Con il test di linearità è stata evidenziata una lieve sovrastima dei campioni diluiti. Buoni risultati sono stati ottenuti anche al test di recupero. Anche se non costantemente, la metodica AIA ha fornito valori di ACTH mediamente più bassi rispetto alla metodica ELSA (Fig. 1); peraltro le concentrazioni rilevate sono rimaste costantemente nel range di normalità della metodica. Nella coorte dei soggetti di controllo, il confronto tra le medie dei valori di ACTH nei diversi gruppi di età considerati, ha dimostrato una differenza statisticamente non significativa probabilmente legata all'ampia variabilità (Fig. 2). Nel modello che considera separatamente i due sessi, solamente nel gruppo dei maschi, è stata evidenziata una differenza significativa ( $p < 0,001$ ) dei valori di ACTH nei diversi gruppi di età (Fig. 3). In conclusione, questi dati dimostrano ottime caratteristiche di riproducibilità ed affidabilità della metodica AIA. Le due metodiche da noi confrontate mostrano una buona correlazione, ma sui livelli patologici, e quindi sulla definizione dei range di normalità, si dovrà ulteriormente ampliare e caratterizzare la casistica.