



Roma, 7-10 novembre 2019

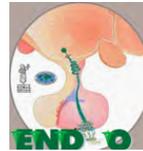
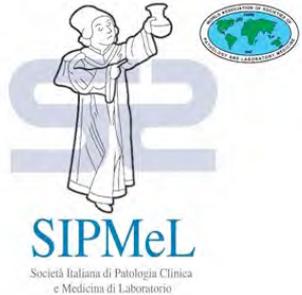


ITALIAN CHAPTER



# MISURA DEGLI STEROIDI

L'importanza dell'Intervallo di Riferimento e dei valori soglia: Testosterone Totale siero e Cortisolo Salivare



**Marina Vitillo**

UOC Patologia clinica ASL Roma 1

P.O. San Filippo Neri – P.O. Santo Spirito in Saxia



Roma, 7-10 novembre 2019

# Conflitti di interesse



ITALIAN CHAPTER



- Ai sensi dell'art. 4.5 su “Docenti e moderatori dell'evento”, pag. 8 del Manuale Nazionale di Accreditemento per l'erogazione di eventi ECM del 06/12/2018, dichiaro che negli ultimi 2 anni **non** ho avuto rapporti diretti di finanziamento con soggetti portatori di interessi commerciali in campo sanitario.



## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



# L'importanza di 'riferirsi'

Interpretare gli esami di laboratorio significa confrontare i risultati dei test con "riferimenti" che permettano un giudizio e di conseguenza un'azione.

**Metodo diretto**

Fase di costruzione di un Intervallo di riferimento	Azione
<b>Individuo di riferimento</b> Compreso nella	<i>Definizione</i>
<b>Popolazione di riferimento</b> Da cui si seleziona	<i>Selezione</i>
<b>Gruppo campione di riferimento</b> sul quale sono determinati i	<i>Determinazione</i>
<b>Valori di riferimento</b> dai quali si può osservare una	<i>Descrizione</i>
<b>Distribuzione di riferimento</b> dalla quale sono calcolati i	<i>Calcolo</i>
<b>Limiti di riferimento</b> che definiscono gli	<i>Definizione</i>
<b>Intervalli di riferimento</b>	





# MISURA DEGLI STEROIDI

## Costruzione IR: Problemi



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## Problemi

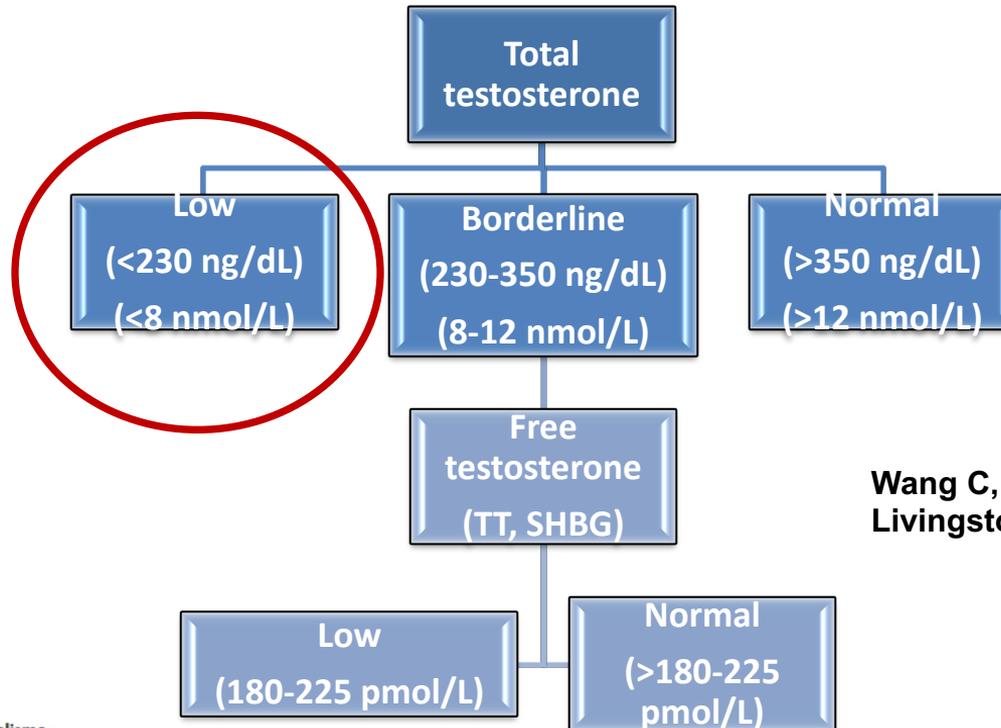
- Disorientamento nell'uso dei metodi per la definizione degli IR
- Difficoltà nella ripartizione, esclusione
- Difficoltà ad ottenere 120 soggetti sani:
  - Costi
  - Tempi
  - Tipologia dei pazienti
- Difficoltà a trasformare i dati
- Difficoltà a identificare i dati aberranti
- Verifica degli intervalli per cambio metodo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





## Investigation, treatment and monitoring of LOH in males



Wang C, Eur J Endocrinol 2008;159:507-14  
Livingston M, et al. Int J Clin Pract 2017; 71:e12





## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



### Utility, limitations, and pitfalls in measuring testosterone

Rosner W, et al. J Clin Endocrinol Metab 2007 (modified)

## Problemi analitici

- Le concentrazioni di TT nel plasma variano su 3 ordini di grandezza
- La concentrazione di TT varia con l'ora del giorno
- Solo 1-3% di T non è legato alle proteine plasmatiche
- Altri steroidi producono interferenze nel dosaggio
- Non esiste uno standard di riferimento
- I metodi di misura sono ampiamente variabili
- I laboratori non definiscono Intervalli di Riferimento locali o regionali



# MISURA DEGLI STEROIDI

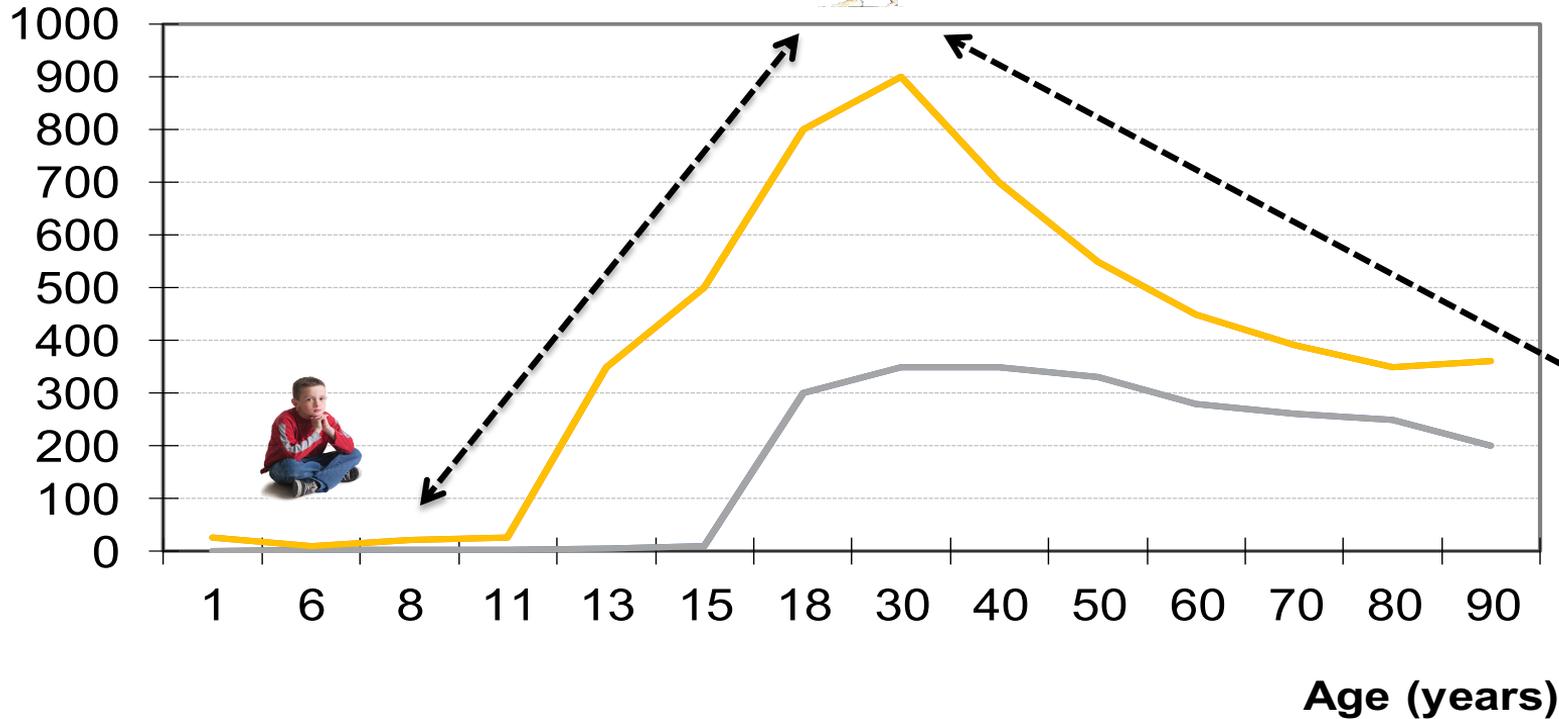
## L'Importanza degli Intervalli di Riferimento e dei Valori Soglia



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

### Testosterone in males (ng/dL)





# MISURA DEGLI STEROIDI TESTOSTERONE



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## Pre-analitiche

PRELIEVO - a digiuno nelle prime ore del mattino e nei primi 10 giorni del ciclo

## Evaluation and Treatment of Hirsutism in Premenopausal Women: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline <sup>FREE</sup>

Kathryn A Martin ✉, R Rox Anderson, R Jeffrey Chang, David A Ehrmann, Rogerio A Lobo, M Hassan Murad, Michel M Pugeat, Robert L Rosenfield

### 1.0 Diagnosis of hirsutism

1.1. We suggest testing for elevated androgen levels in all women with an abnormal hirsutism score (2 | ⊕ ⊕ ⊕ ⊕). In those cases where serum total testosterone levels are normal, if sexual hair growth is moderate/severe or sexual hair growth is mild but there is clinical evidence of a hyperandrogenic endocrine disorder (such as menstrual disturbance or progression in spite of therapy), we suggest measuring an early morning serum total and free testosterone by a reliable specialty assay. (2 | ⊕ ⊕ ⊕ ⊕)





# MISURA DEGLI STEROIDI TESTOSTERONE



Method	Strenghts	Shortcomings
Direct immunoassay (RIA, ELIA, FIA, CLIA)	Automated, simple, rapid, inexpensive High throughput and fast TAT	TT overestimated or underestimated Matrix effects Poorly standardized Results and RI method-dependent Limited accuracy at low concentrations RI not well documented
Indirect immunoassay (after extraction and chromatography)	Large sample volumes Extensively used in the past	Cumbersome, time consuming, costly High technical expertise Matrix effects Imprecise
Mass spectrometry [after extraction and liquid (LC) and gas (GC) chromatography]	Multiplex assay Highly accurate	Expensive Lack of standardization Limited throughput and long TAT



# MISURA DEGLI STEROIDI TESTOSTERONE



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## Total testosterone decision limits in males

- 12.0 nmol/L – 350 ng/dL (Wang 2008, Livingston 2017)
- 10.4 nmol/L – 303 ng/dL (Mulareedaran 2013)
- 8.7 nmol/L – 254 ng/dL (Shores 2012)
- 8.0 nmol/L – 230 ng/dL (Wang 2008, Livingston 2017)



## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- **TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti**
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



Roma, 7-10 novembre 2019

❑ 351 healthy European subjects

❑ Age: 19-55 years

❖ 4 Automated immunoassay platforms

- Abbott Architect i1000 SR
- Beckman Coulter UniCel Dxl800
- Roche Cobas e601
- Siemens Immulite 2000

❖ 1 Liquid chromatography/Mass spectrometry platform

- Agilent

Giacomo Montagna, Samuela Balestra, Federica D'Aurizio, Francesco Romanelli, Cinzia Benagli, Renato Tozzoli, Lorenz Risch, Luca Giovannella\* and Mauro Imperiali

**Establishing normal values of total testosterone in adult healthy men by the use of four immunometric methods and liquid chromatography-mass spectrometry**

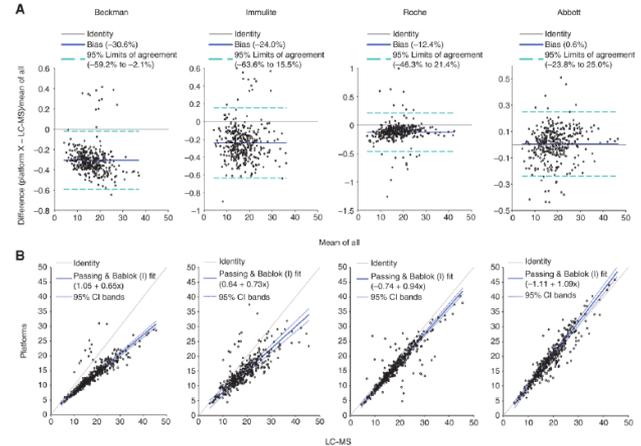


Figure 1: Interassay agreement and differences in serum testosterone levels between four commercial IMAs and LC-MS/MS.



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodo diretto



ITALIAN CHAPTER



TT reference intervals in men: are they method-dependent? A Swiss-Italian experience with direct method

Reference Intervals for testosterone in males with direct method

Method	RI (nmol/L)	RI (ng/dL)	P (vs LC/MS)
Beckman	<b>6.06</b> -25.09	<b>175</b> -723	<0.001
Siemens	<b>6.02</b> -28.08	<b>173</b> -809	<0.001
Roche	<b>6.01</b> -31.81	<b>173</b> -917	<0.001
Abbott	<b>7.13</b> -36.96	<b>205</b> -1.065	n.s.
LC/MS	<b>7.50</b> -34.58	<b>216</b> -997	----



Gruppo di Studio SIPMeL in

Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

Montagna G, et al. Clin Chem Lab Med 2018;56:1936-44

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodo diretto



ITALIAN CHAPTER



TT reference intervals in men: are they method-dependent? A Swiss-Italian experience with direct method  
Healthy subjects with TT <8 nmol/L

Method	N/T (%)
Beckman	18
Siemens	13
Roche	11
Abbott	9
LC/MS	6



Gruppo di Studio SIPMeI in  
Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

Montagna G, et al. Clin Chem Lab Med 2018;56:1936-44

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- **TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data**
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodi Indiretti



ITALIAN CHAPTER



### Metodi indiretti

- Si basano sull'assunto che la maggior parte dei risultati prodotti dal laboratorio si riferisce a soggetti non affetti da malattia
- Utilizzano i dati (big data) presenti nel database dei Sistemi Informatici di Laboratorio (LIS)
- Kairisto, Medcalc



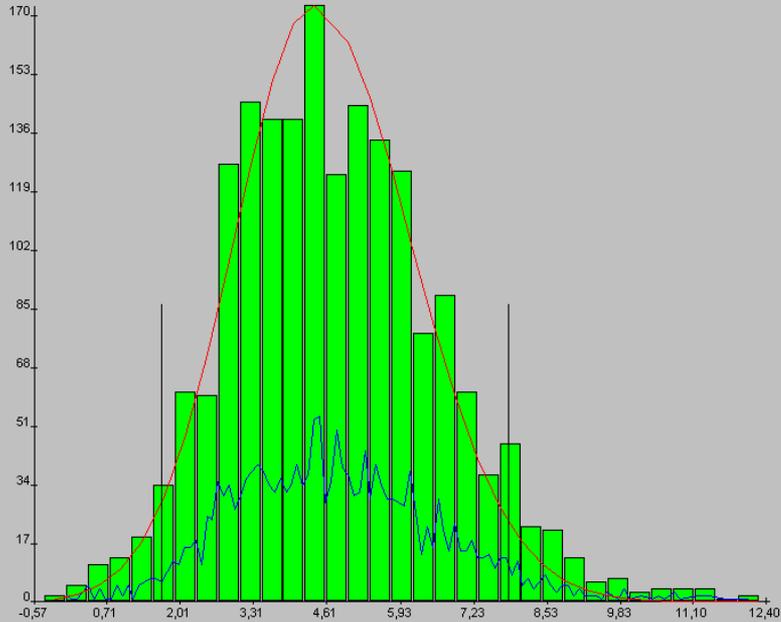
# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodi Indiretti

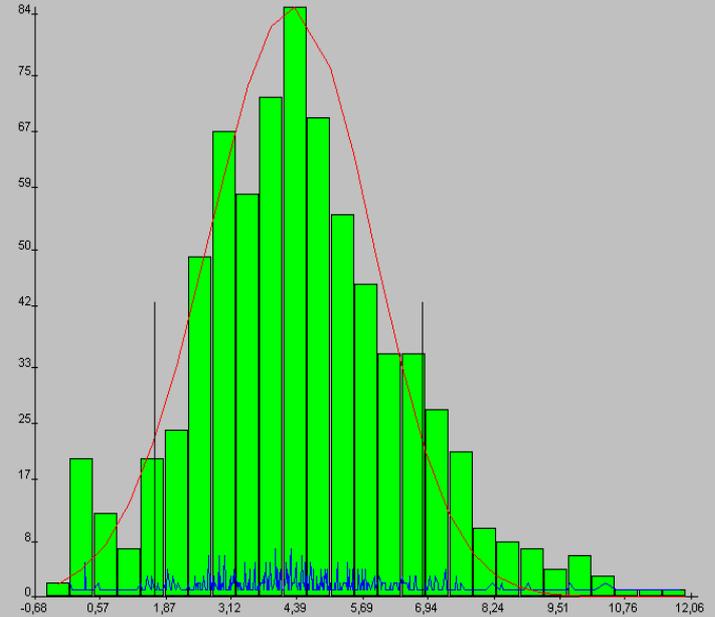


ITALIAN CHAPTER

### TT distribution in adult males (21-40 years) Pordenone and Rome



Pordenone



Rome



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodo Indiretto

### Pordenone - Roma



ITALIAN CHAPTER



## Testosterone Reference Intervals in adult males: Indirect method (Khairisto) using current (big) data (no. 6602) (2007-2018) Pordenone – Siemens Immulite IMA

Years	21-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-96
Mean (ng/dL)	478	438	429	364	244	139
Range (ng/dL)	214-732	170-640	169-632	107-620	86-347	50-266
No.	1855	1267	1172	1145	839	324



Gruppo di Studio SIPMeL in  
Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodi Indiretti



ITALIAN CHAPTER



### Testosterone Reference intervals in adult males: Indirect method (Khairisto) using current (big) data (no. 5365) (2013-2018) Rome - Roche Elecsys-Cobas method

Years	21-40	41-50	51-60	61-70	71-80	81-96
Mean (ng/dL)	450	435	406	363	279	176
Range (ng/dL)	165-684	153-622	134-614	99-630	79-485	52-265
No.	744	716	950	1078	1327	550



Gruppo di Studio SIPMeI in  
Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





# MISURA DEGLI STEROIDI

## Testosterone: IR Metodi Indiretti

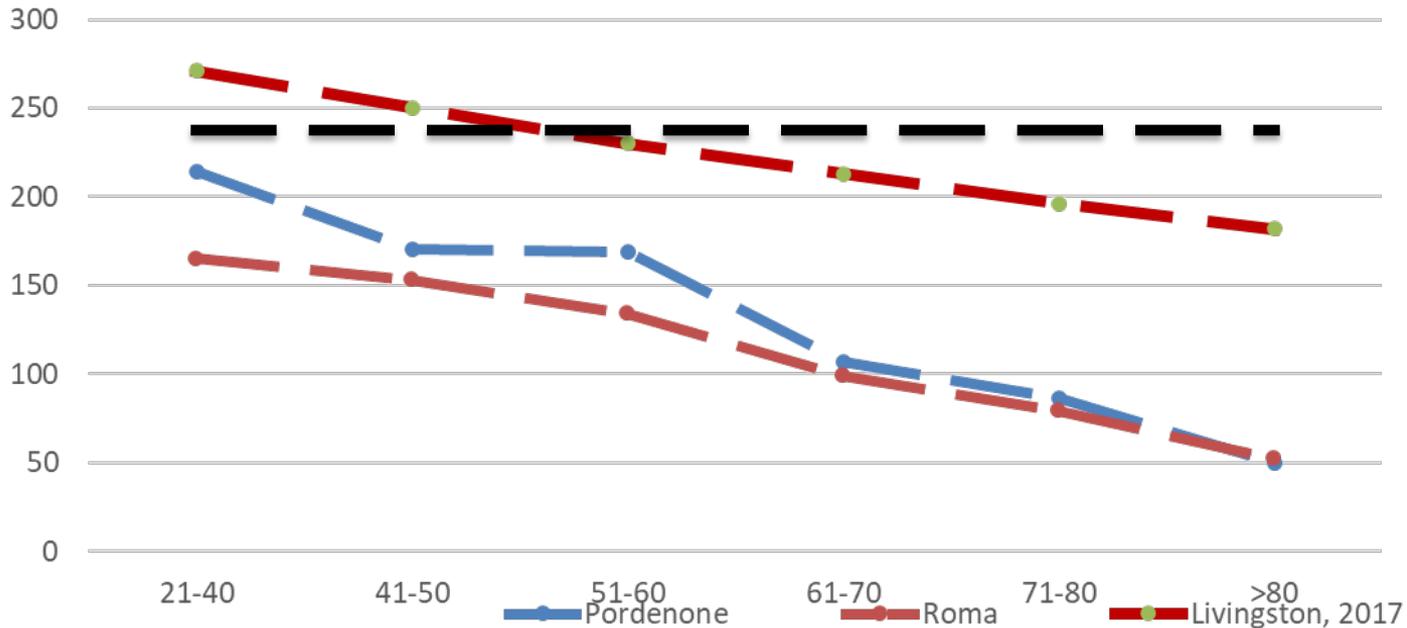


ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## Testosterone LRL: Pordenone and Rome

Testosterone (LRL: ng/dL)



SISTEMA SANITARIO REGIONALE





# MISURA DEGLI STEROIDI

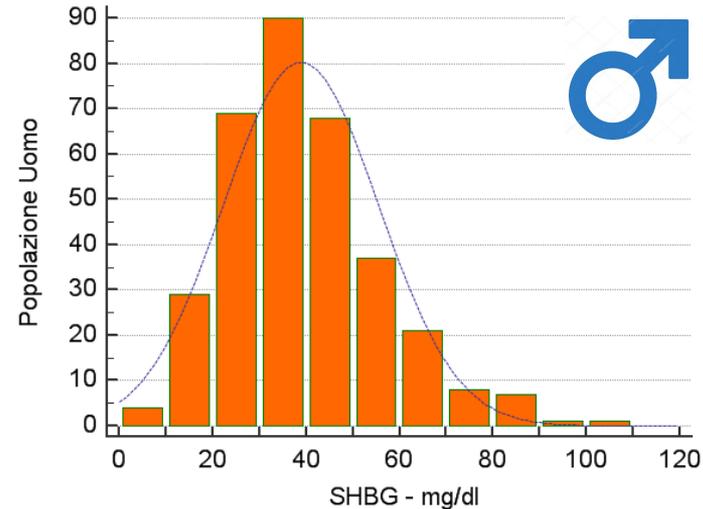
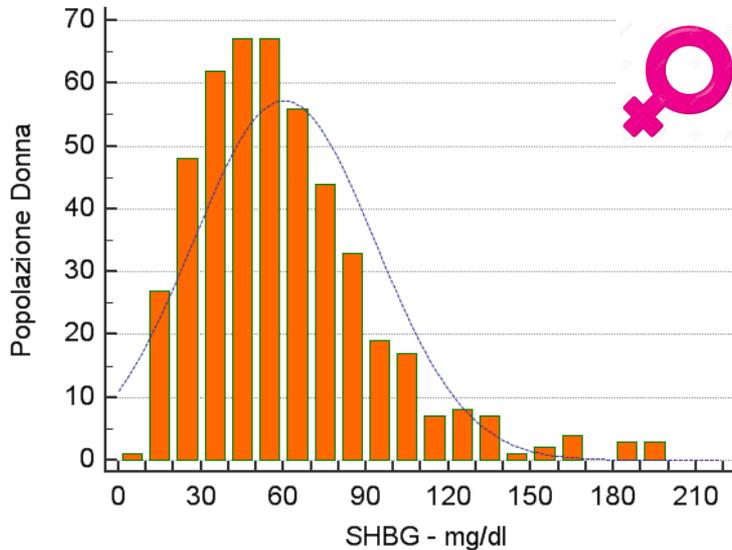
## SHBG: IR Metodi Indiretti



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## SHBG Reference intervals in adult: Indirect method (Medcalc software) using current (big) data (no. 811) (2013-2019) Rome – SIEMENS Immulite IMA





# MISURA DEGLI STEROIDI

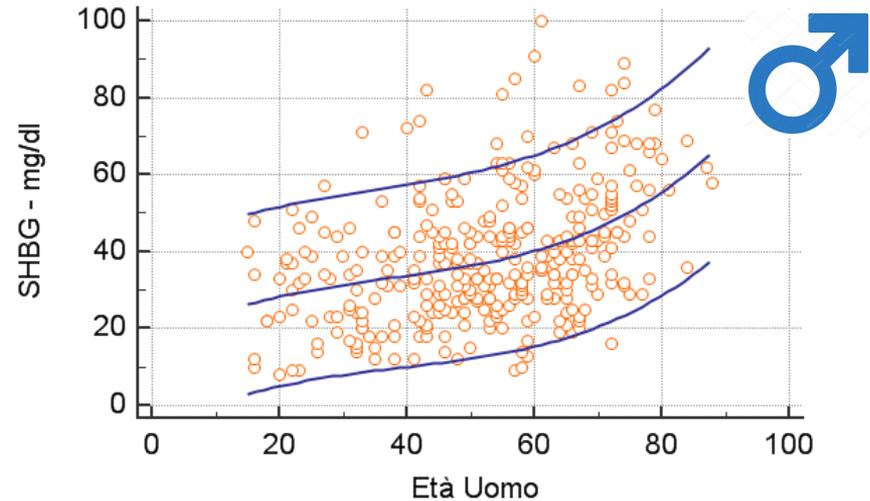
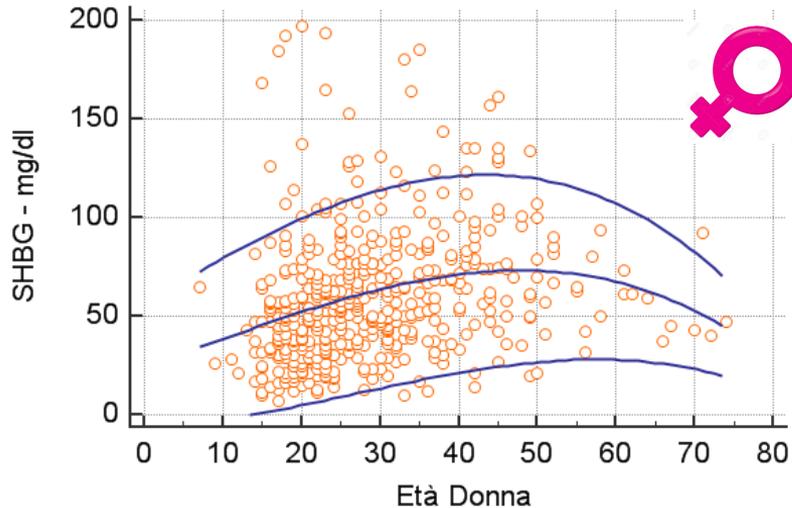
## SHBG: IR Metodi Indiretti



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## SHBG Reference intervals in adult: Indirect method (Medcalc software) using current big data (no. 811) (2013-2019) Rome – SIEMENS Immulite IMA





## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- **TT + FT: Studio multicentrico**
- Cortisolo salivare



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## Methods for FT assessment

**Morales A, et al. Can J Urol 2012;19:6314-8**



ITALIAN CHAPTER



- Equilibrium dialysis (reference method)  
Manual, time consuming, costly method
- Ultrafiltration (reference method)  
Faster and more automated than ED, manual, time consuming, costly method
- Tandem mass spectrometry  
Time consuming, costly method
- Analog FT IMA  
'Direct' measurement of FT by RIA and CLIA, commercially available, but considered inaccurate
- Calculated FT (FAI)  
Ratio of TT and SHBG: reliable (?)
- Calculated FT (cBAT)  
cFT, cBAT from TT, SHBG, Albumin: is the preferred method (?)



# MISURA DEGLI STEROIDI

## mFT vs cFT



ITALIAN CHAPTER

## STUDIO MULTICENTRICO

Obiettivo: la correlazione dei risultati della misura diretta di FT con metodi immunometrici (mFT) e dell'indice di testosterone libero (cFT), calcolato mediante la formula di Vermeulen, che richiede la quantificazione di TT, SHBG e A.

Sono stati coinvolti 5 laboratori italiani (**Roma, Pordenone, Ascoli Piceno, Milano, Bari**), presso i quali è stata effettuata la misura di TT, FT e SHBG, mediante l'impiego di un metodo immunometrico automatizzato commerciale (IDS-iSyS, Technogenetics).

Il numero totale dei pazienti indagati è stato di 515: i campioni di siero derivano da pazienti, di sesso maschile (297) e femminile (218), giunti ai centri prelievo dei 5 laboratori, per indagini relative a ipogonadismo maschile e a iperandrogenismo femminile.



# MISURA DEGLI STEROIDI

## mFT vs cFT



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

Pazienti	TT (ng/mL)	SHBG (nmol/L)	mFT (pg/mL)	cFT
<b>Totali</b>	<b>2.62</b>	<b>52.36</b>	<b>5.35</b>	<b>50.42</b>
<b>Femmine</b>	<b>0.59</b>	<b>68.94</b>	<b>1.85</b>	<b>8.59</b>
<b>Maschi</b>	<b>4.12</b>	<b>40.28</b>	<b>7.94</b>	<b>81.29</b>

Risultati complessivi



Gruppo di Studio SIPMeL in

Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





# MISURA DEGLI STEROIDI

## mFT vs cFT



Roma, 7-10 novembre 2019

ITALIAN CHAPTER

Centri	TT (ng/mL)	SHBG (nmol/L)	mFT (pg/mL)	cFT
Pordenone	0.65	65.95	2.20	10.78
Milano	0.53	60.43	1.65	7.48
Ascoli	0.70	67.51	1.78	9.33
Roma	0.46	66.67	1.59	6.18
Media	0.59	65.14	1.81	8.44
DS	0.09	2.77	0.24	1.75
CV	15.25	4.25	13.26	20.73

ISTITUTO REGIONALE



Gruppo di Studio SIPMeL in  
Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

Risultati ottenuti nel sesso femminile



ASL  
ROMA 1



# MISURA DEGLI STEROIDI

## mFT vs cFT



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

	TT (ng/mL)	SHBG (nmol/L)	mFT (pg/mL)	cFT
<b>Pordenone</b>	<b>3.67</b>	<b>40.55</b>	<b>7.60</b>	<b>72.87</b>
<b>Milano</b>	<b>3.98</b>	<b>46.30</b>	<b>7.41</b>	<b>72.15</b>
<b>Ascoli</b>	<b>4.52</b>	<b>40.36</b>	<b>7.86</b>	<b>91.09</b>
<b>Roma</b>	<b>4.04</b>	<b>41.60</b>	<b>7.49</b>	<b>78.49</b>
<b>Media</b>	<b>4.05</b>	<b>42.20</b>	<b>7.59</b>	<b>78.65</b>
<b>DS</b>	<b>0.30</b>	<b>2.41</b>	<b>0.17</b>	<b>7.59</b>
<b>CV</b>	<b>7.41</b>	<b>5.71</b>	<b>2.24</b>	<b>9.65</b>



EMA SANITARIO REGIONALE



Risultati ottenuti nel sesso maschile



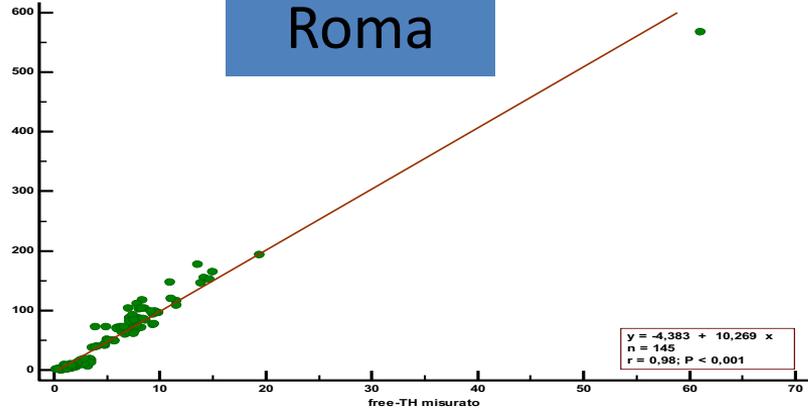
# MISURA DEGLI STEROIDI mFT vs cFT



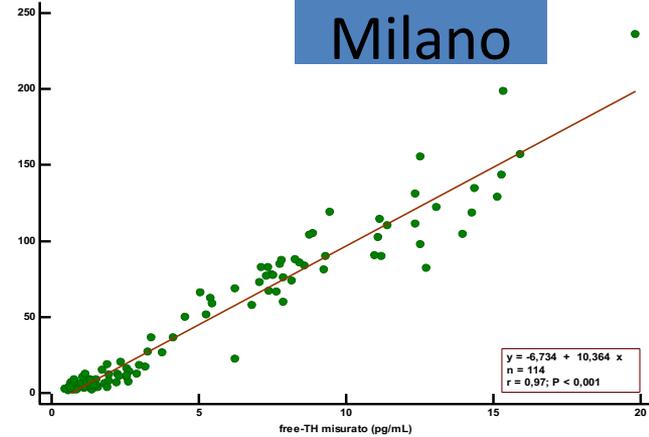
Roma, 7-10 novembre 2019

ITALIAN CHAPTER

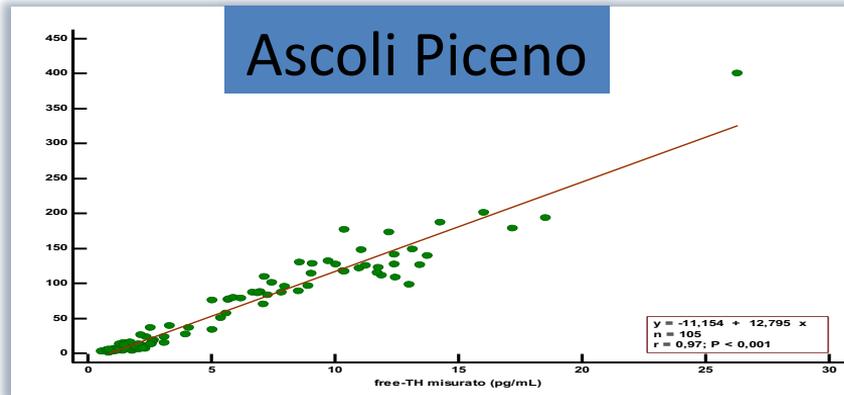
## Roma



## Milano



## Ascoli Piceno



Gruppo di Studio SIPMeL in

Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE



ASL  
ROMA 1



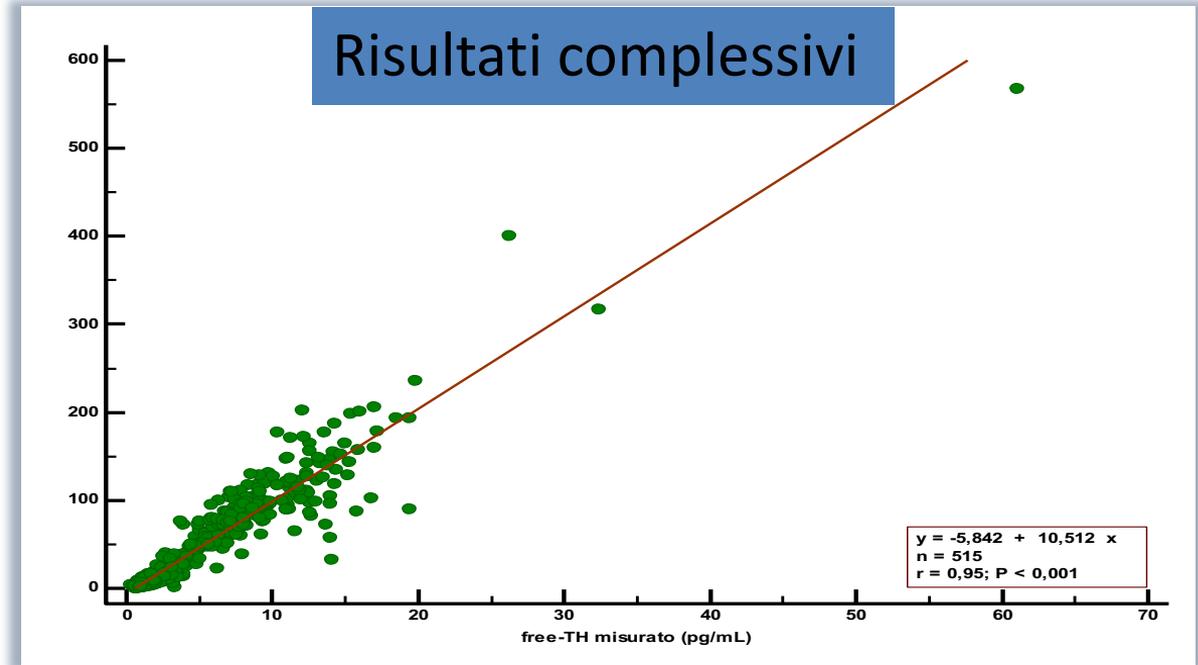
# MISURA DEGLI STEROIDI mFT vs cFT



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

**Buona  
correlazione  
mFT vs cFT**



Gruppo di Studio SIPMeL in  
Endocrinologia e Malattie del Metabolismo

SISTEMA SANITARIO REGIONALE





## Agenda

- Intervalli di Riferimento e Valori Soglia
- Punti di forza e criticità nella misura del Testosterone
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi diretti
- TT Intervalli di Riferimento: Metodi indiretti – Big data
- TT + FT: Studio multicentrico
- Cortisolo salivare



# MISURA DEGLI STEROIDI CORTISOLO SALIVARE (CS)



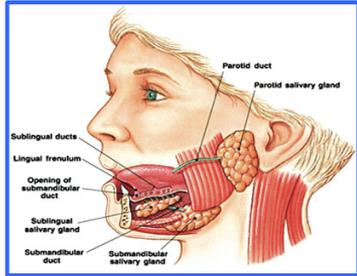
ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## Current Status of Salivary Hormone Analysis

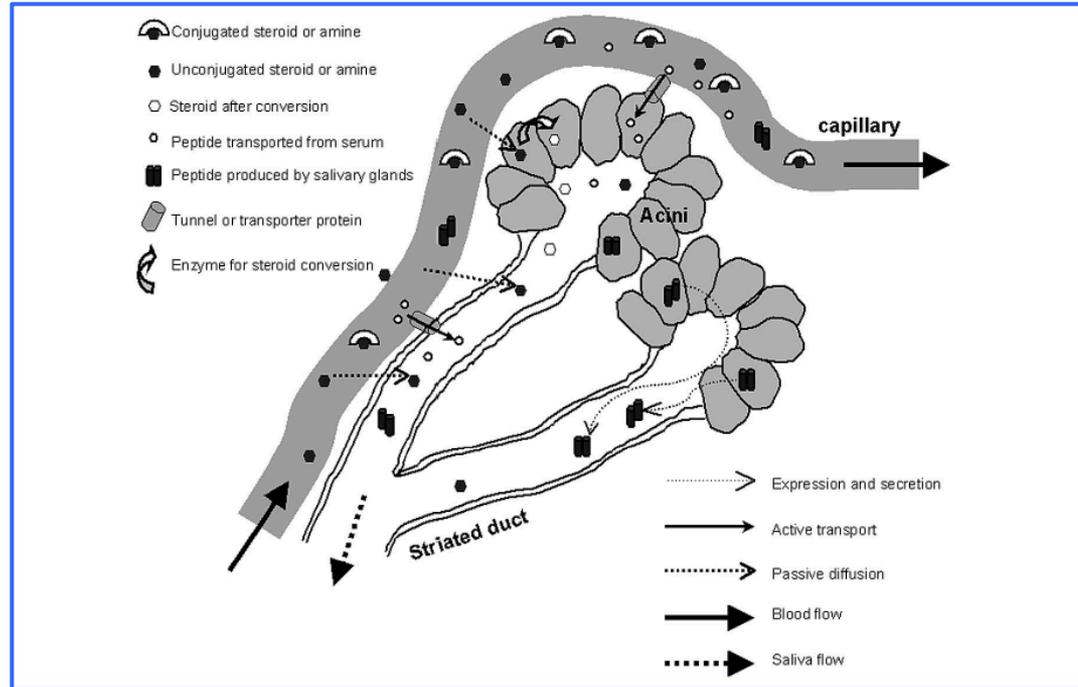
Michael Gröschl

Clinical Chemistry 54:11  
1759-1769 (2008)



<http://www.lancet.co.za>

La concentrazione salivare  
del cortisolo correla con  
quella sierica.  
Inoltre è indipendente  
dalla velocità del flusso



**Transport mechanisms of hormones into saliva.** Steroid hormones, being conjugated to specific transport proteins in the circulation, enter the glands **by passive diffusion**. In specific cases, an enzymatic conversion occurs (e.g., cortisol to cortisone). Peptides enter the salivary glands either by active transport mechanisms (e.g., insulin) or are expressed and secreted by the salivary glands themselves (e.g., epidermal growth factor).



# MISURA DEGLI STEROIDI CORTISOLO SALIVARE (CS)



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene. Raccomandazioni pratiche per la sindrome di Cushing

*Laboratory diagnostics of adrenal diseases. Practice guidelines for Cushing's syndrome*

Federica D'Aurizio<sup>1</sup> · Renato Tozzoli<sup>1</sup> · Romolo Marco Dorizzi<sup>2</sup> · Vincenzo Brescia<sup>3</sup> ·  
Elisa Esposito<sup>4</sup> · Antonio Fortunato<sup>5</sup> · Luca Giovannella<sup>6</sup> · Gabriele Guzzaloni<sup>7</sup> ·  
Gruppo di Studio Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM)

Ricevuto: 9 aprile 2015 / Accettato: 24 aprile 2015 / Pubblicato online: 12 giugno 2015  
© Springer-Verlag Italia 2015

**Raccomandazione 2** Per la misura del CSN si suggerisce l'utilizzo di un metodo immunometrico, valutando attentamente il relativo *cut-off*, o di un metodo LC-MS/MS, che consente di identificare l'eventuale contaminazione da steroidi sintetici determinando i livelli sia di cortisolo sia di cortisone salivari (2/⊕⊕○○).



# MISURA DEGLI STEROIDI

## CS: UTILITA' DIAGNOSTICA – LC-MS/MS



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

### La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene. Raccomandazioni pratiche per la sindrome di Cushing

#### *Laboratory diagnostics of adrenal diseases. Practice guidelines for Cushing's syndrome*

Federica D'Aurizio<sup>1</sup> · Renato Tozzoli<sup>1</sup> · Romolo Marco Dorizzi<sup>2</sup> · Vincenzo Brescia<sup>3</sup> ·  
Elisa Esposito<sup>4</sup> · Antonio Fortunato<sup>5</sup> · Luca Giovannella<sup>6</sup> · Gabriele Guzzaloni<sup>7</sup> ·  
Gruppo di Studio Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM)

Ricevuto: 9 aprile 2015 / Accettato: 24 aprile 2015 / Pubblicato online: 12 giugno 2015  
© Springer-Verlag Italia 2015

**Tabella 5** Confronto tra i diversi metodi per la determinazione del cortisolo salivare notturno (modificata da [42])

	EIA/ELISA (manuale)	ECLIA (automatizzato)	LC-MS/MS
Volume del campione (µl)	50 <sup>a</sup>	40 <sup>a</sup>	100–250 (estrazione)
Sensibilità analitica (nmol/L)	0,03–0,14	0,20–0,60	0,08–2,00 <sup>b</sup>
Specificità	Possibile <i>cross</i> -reattività con cortisone e altri steroidi sintetici	Possibile <i>cross</i> -reattività con cortisone e altri steroidi sintetici	<i>Cross</i> -reattività poco frequente con cortisone e altri steroidi sintetici
Costi	Contenuti	Contenuti	Alti in fase di avvio
Grado di difficoltà	Minimo	Minimo	Rilevante

ECLIA: *electrochemiluminescence immunoassay*; EIA: *enzyme immunoassay*; ELISA: *enzyme-linked immunosorbent assay*; LC-MS/MS: *liquid chromatography tandem mass spectrometry*

<sup>a</sup>Il volume riportato è sufficiente per la determinazione in duplicato

<sup>b</sup>La sensibilità analitica dell'LC-MS/MS dipende dal volume di saliva dopo estrazione



# MISURA DEGLI STEROIDI CORTISOLO SALIVARE (CS)



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

## La diagnostica di laboratorio delle malattie del surrene. Raccomandazioni pratiche per la sindrome di Cushing

*Laboratory diagnostics of adrenal diseases. Practice guidelines for Cushing's syndrome*

Federica D'Aurizio<sup>1</sup> · Renato Tozzoli<sup>1</sup> · Romolo Marco Dorizzi<sup>2</sup> · Vincenzo Brescia<sup>3</sup> ·  
Elisa Esposito<sup>4</sup> · Antonio Fortunato<sup>5</sup> · Luca Giovannella<sup>6</sup> · Gabriele Guzzaloni<sup>7</sup> ·  
Gruppo di Studio Endocrinologia e Malattie del Metabolismo (GdS-EMM)

Ricevuto: 9 aprile 2015 / Accettato: 24 aprile 2015 / Pubblicato online: 12 giugno 2015  
© Springer-Verlag Italia 2015

**Raccomandazione 3** Per una corretta misura del CSN, si raccomanda di standardizzare la fase della raccolta della saliva utilizzando un dispositivo adeguato e istruzioni dettagliate per il paziente (1/⊕ ⊕ ⊕ ○).

# MISURA DEGLI STEROIDI

## CSN: Fase pre-analitica – Raccolta del campione

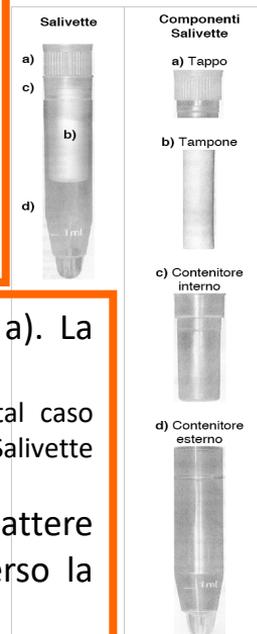


ITALIAN CHAPTER



Roma, 7-10 novembre 2019

- Effettuare la raccolta della saliva tra le ore 23 e le ore 24
  - Nelle 2 ore precedenti la raccolta della saliva:
    - non assumere cibo e bevande (ad eccezione dell'acqua)
    - non fumare
  - Sciacquarsi la bocca con un bicchiere d'acqua 10 minuti prima della raccolta.
- NB:** Evitare di raccogliere il campione in presenza di sanguinamenti del cavo orale.



- 1 Stringere saldamente il bordo del contenitore interno c) e svitare il tappo a). La rimozione del tappo è facilitata se lo si spinge lateralmente.  
(Durante questa operazione il contenitore interno potrebbe fuoriuscire da quello esterno: in tal caso proseguire con le operazioni descritte ai punti successivi e al termine riassemblare la Salivette riposizionando il contenitore interno in quello esterno).
- 2 Collocare il tampone direttamente in bocca. Per facilitare l'operazione battere delicatamente il fondo della provetta in modo che il tampone si sposti verso la bocca. **NON TOCCARE IL TAMPONE CON LE DITA.**
- 3 Masticare delicatamente il tampone per 2 minuti. Riporre quindi il tampone nel contenitore interno c) (vedi foto). **NON TOCCARE IL TAMPONE CON LE DITA.**
- 4 Chiudere la Salivette premendo saldamente il tappo.
- 5 Conservare il contenitore, ben chiuso, in frigorifero a 4° C e consegnare il giorno successivo in sala prelievi.





# MISURA DEGLI STEROIDI

## CS: UTILITÀ DIAGNOSTICA – METODI IMA



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

Autore	Anno	Metodo	LoD (nmol/L)	CO nmol/L	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Restituto	2008	EIA-DSL	0.027	2.2	88	82
Masserini	2009	TR-FIA- Wallac	Nr	5.1	23	88
Carrozza	2010	ECLIA-Roche	0.60	8.3	100	97
Jeyareman	2010	ECLIA-Roche	0.50	4.5	94	81
Sereg	2011	ECLIA-Roche	0.50	9.9	91	94
Carrasco	2012	ECLIA-Roche	0.50	4.3	100	83
Deutschbein	2012	ECLIA-Roche	0.20	6.1	95	91
Belaya	2012	ECLIA-Roche	Nr	9.4	84	98
Bukan	2015	EIA-Salimetrics	0.08	5.0	96	100
<b>Range</b>			<b>0.027-0.60 (0.09-0.21)</b>	<b>2.2-9.9 (0.8-3.59)</b>	<b>23-100</b>	<b>81-100</b>
<b>Mean</b>			<b>0.4 (0.15)</b>	<b>6.0 (2.2)</b>	<b>86</b>	<b>90</b>



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## CS: UTILITÀ DIAGNOSTICA – LC-MS/MS



ITALIAN CHAPTER



Autore	Anno	Metodo	LoD (nmol/L)	CO nmol/L	Sensitivity (%)	Specificity (%)
Zerikly	2010	LC-MS/MS	Nr	2.9	92	92
Erickson	2012	LC-MS/MS	0,11	2.1	83	84
<b>Range</b>			<b>0.11 (0.04)</b>	<b>2.1-2.9 (0.8-1.0)</b>	<b>84-92</b>	<b>83-84</b>
<b>Mean</b>			<b>0.11 (0.04)</b>	<b>2.5 (0.9)</b>	<b>86</b>	<b>90</b>



Roma, 7-10 novembre 2019

# MISURA DEGLI STEROIDI

## CORTISOLO SALIVARE: IR – Metodo diretto



ITALIAN CHAPTER



## Pordenone

- 105 soggetti sani (personale del Dipartimento di Medicina di Laboratorio: 61 F, 45M)
- Età: 20-65 anni
- 3 prelievi: ore 08.00, 16.00, 23.00
- Dispositivo: Salivette (Sarstedt, Germania)
- Metodo: immuno-enzimatico (ELISA-HRP su micropiastra)
- Strumento: Triturus (Grifols, Italia)
- Sensibilità analitica: 0.05 ng/mL (0.14 nmol/L)
- Imprecisione: 2.5-7.6% nella serie, 6.3-13.9% interserie



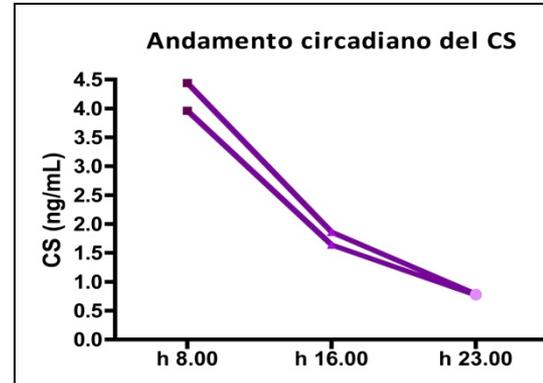
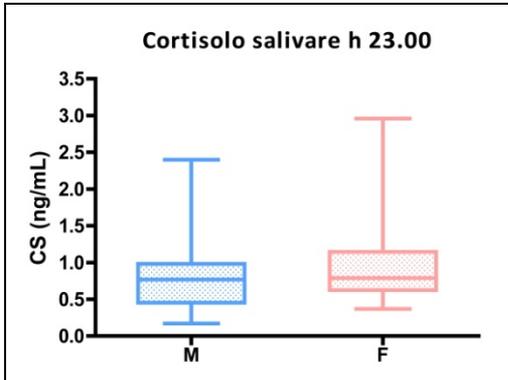
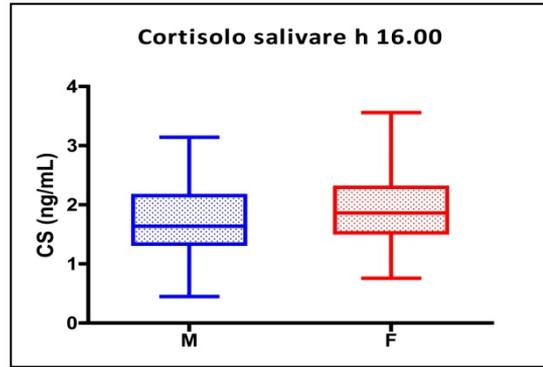
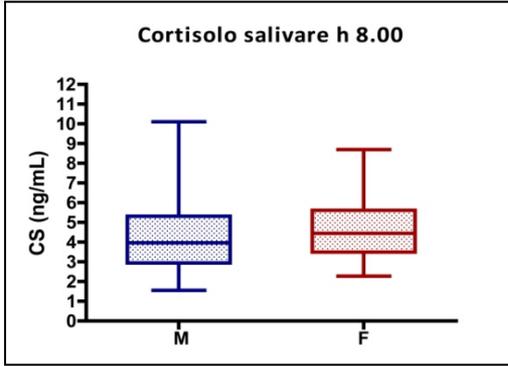
# MISURA DEGLI STEROIDI

## CORTISOLO SALIVARE: IR – Metodo diretto



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019



Campione CS	N	Mediana (ng/mL)	2.5° - 97.5° p	1° -99° p
h 08.00	45	3.96	1.82-9.26	1.57-1.82
h 16.00	45	1.64	0.62-2.88	0.62-2.88
h 23.00	45	0.77	0.30-1.99	0.30-1.99

Campione CS	N	Mediana (ng/mL)	2.5° -97.5° p	1° -99° p
h 08.00	60	4.44	2.73-8.28	2.30-8.68
h 16.00	60	1.81	1.08-3.34	0.78-3.45
h 23.00	60	0.79	0.42-2.70	0.37-2.82

Non si osservano differenze statisticamente significative tra le mediane del CS nei due sessi ( $p > 0.05$ )



# MISURA DEGLI STEROIDI

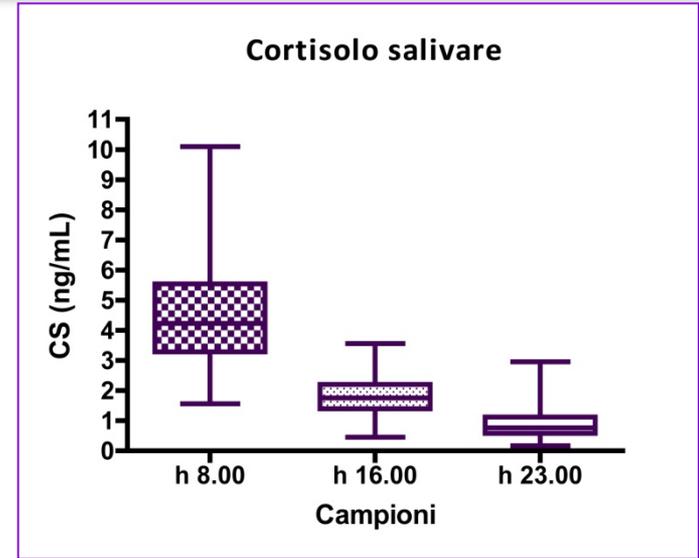
## CORTISOLO SALIVARE: IR – Metodo diretto



ITALIAN CHAPTER

Roma, 7-10 novembre 2019

Campione CS	N	Mediana (ng/mL)	2.5° - 97.5°	1° -99°
h 08.00	105	4.23	2.17-8.83	1.58-9.27
h 16.00	105	1.75	0.80-3.02	0.46-3.37
h 23.00	105	0.77	0.31-2.50	0.18-2.72



### INTERVALLI DI RIFERIMENTO DEL CS

h 08.00	2.15-8.85 ng/mL
h 16.00	0.80-3.00 ng/mL
h 23.00	0.30-2.50 ng/mL

### LIVELLO DECISIONALE PER IPO-CORTISOLISMO

h 08.00 **1.60 ng/mL** **4.4 nmol/L**

### LIVELLO DECISIONALE PER IPER-CORTISOLISMO

h 23.00 **3.00 ng/mL** **8.3 nmol/L**



### CONCLUSIONI

- Intervalli di riferimento sono indispensabili per valutare qualsiasi risultato di laboratorio
- Pochi laboratori verificano la congruità degli IR forniti dalle aziende produttrici di diagnostici
- Oltre ai metodi diretti, complessi, esistono metodi indiretti che utilizzano i 'big data', più semplici
- Nuovi metodi IMA per la misura diretta del FT forniscono risultati che correlano bene con cFT
- CSN: il livello decisionale per ipercortisolismo si conferma 3 ng/ml