

Trent'anni di *Ligandassay* e trent'anni di immunometria

Ruggero Dittadi¹, Marco Migliardi²

¹ Vicepresidente ELAS-Italia

² Past president ELAS-Italia

La rivista *Ligandassay* compie 30 anni.

Non è una rivista prestigiosa in termini di indicizzazione e *impact factor*, ma ha svolto con costanza e coerenza il compito che si erano prefissati i fondatori. E cioè, per citare l'editoriale del primo numero, a cura di Renzo Malvano e Giancarlo Zucchelli [1], quello di essere *“un terreno di incontro fra le varie discipline che si avvantaggiano delle metodologie analitiche di ligand assay”*. Di essere uno strumento *“flessibile, accessibile”* (a tutt'oggi è una delle poche riviste scientifiche che conserva la stampa cartacea, oltre al formato digitale). Di *“pubblicare in ogni suo numero rassegne su argomenti monografici, note tecniche e rubriche dedicate a temi di interesse per i laboratori”*. In particolare, proprio il suo caratteristico formato monografico, con rassegne prodotte sempre dai migliori specialisti italiani di ciascun settore, permette di portare avanti con successo la sua funzione formativa, e di continuare a far passare il messaggio fondamentale, sebbene sempre più misconosciuto, che *“i metodi di “ligand assay” ... non sono da considerarsi semplicemente come un gruppo di tecniche analitiche che seguono comunque regole applicabili ai saggi di laboratorio fondati su altri principi, e non possono essere direttamente descritti in termini convenzionali di stechiometria, termodinamica e cinetica. Di fatto, per tali metodi non possiamo derivare modelli generalizzabili dalla più ricca e collaudata esperienza della chimica-clinica tradizionale”*.

In questo numero speciale dedicato al trentesimo anniversario, riprendendo alcuni degli argomenti che erano stati toccati nel primo numero e ampliando ulteriormente l'orizzonte, abbiamo voluto esaminare, in modo sintetico ed esemplificativo, come si è evoluta l'immunometria in questi trent'anni e quale apporto è stata in grado di fornire agli studi clinici e alla ricerca.

In particolare, inaugurava il volume 0 di *Ligandassay* un lavoro di Roger Ekins [2], uno dei padri più prestigiosi dei metodi immunometrici, il cui articolo, ancora attuale, viene riproposto all'inizio del presente numero. Ekins proprio in quel periodo metteva in crisi le opinioni degli altri specialisti, sostenendo che quei metodi, di cui lui era uno degli *“inventori”*, erano teoricamente non standardizzabili, in particolare per quanto concerneva gli analiti eterogenei (come le proteine con diverse isoforme o forme diversamente glicosilate) considerabili a tutti gli effetti dei *“composti”*.

Infatti, la standardizzazione prevede la comparabilità tra diversi laboratori e nel tempo grazie a materiali e procedure di riferimento di ordine superiore. Si vuole in tale modo garantire che le misurazioni siano tracciabili rispetto a uno standard internazionale comune [3].

Ancora negli anni '90 invece, la variabilità nei saggi immunometrici era particolarmente evidente, specie per analiti complessi come la troponina cardiaca, il PSA, il TSH, il PTH, i marcatori tumorali mucinici. L'eterogeneità

delle molecole, le differenze nei calibratori, nelle specificità anticorpali e nelle curve di calibrazione rendevano difficile confrontare i risultati tra diversi laboratori.

Già a cavallo tra gli anni '90 e il 2000, la comunità scientifica riconobbe che, se arrivare alla standardizzazione assoluta risultava molto difficile e spesso quasi irrealizzabile, era almeno possibile lavorare su una migliore armonizzazione dei risultati tra diversi metodi commerciali.

L'armonizzazione, infatti, si concentra sull'allineamento di diversi metodi e sui processi necessari per ottenere risultati comparabili, anche se le procedure o i materiali utilizzati differiscono [3,4]. Mira in sostanza a garantire che test diversi producano risultati clinicamente equivalenti, facilitando un'interpretazione e un'applicazione coerenti [5]. Questo significa ridurre le discrepanze nei valori riportati dai vari saggi, anche se le differenze metodologiche persistono.

Le procedure di armonizzazione possono prevedere fra l'altro l'omogeneizzazione non solo del dato analitico, ma anche di tutto ciò che ne permette l'interpretazione, come le unità di misura e gli intervalli di riferimento [3].

Progetti internazionali di armonizzazione sono stati attivati negli ultimi anni, come per esempio il *“Vitamin D Standardization Program”* [6], l'iniziativa *“Troponin Standardization”* dell'IFCC [7,8] e, per il TSH, gli studi condotti dal *Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests*, promossi anch'essi dall'IFCC [9]. A questo proposito, è importante ricordare che lo standard ISO 21151:2020 [10] prevede l'implementazione di un algoritmo che era stato applicato e verificato nell'ambito degli studi per l'armonizzazione del TSH [11].

Sempre per questo analita sono stati proposti anche approcci alternativi di tipo statistico, basati sul valore della media di consenso ottenuta nell'ambito di programmi di valutazione esterna di qualità [12,13], e specifici algoritmi [14].

Queste iniziative hanno portato a un significativo miglioramento della confrontabilità fra metodi [15], anche se per diversi aspetti le sfide rimangono aperte [16].

In sintesi, sebbene Ekins avesse ragione nel sostenere che la standardizzazione perfetta dei saggi immunometrici risultasse impossibile, almeno per molti parametri, negli ultimi 30 anni si è assistito a un'evoluzione significativa verso una migliore armonizzazione, con benefici concreti per la medicina di laboratorio e la pratica clinica.

Lo storico numero di *Ligandassay*, muovendosi nel contesto del dibattito in corso a metà degli anni '90, proponeva altri lavori che vertevano su specifici aspetti della standardizzazione, relativi ai marcatori tumorali [17,18], alla sierologia e virologia [19,20] e perfino alle prime applicazioni in campo microbiologico della biologia molecolare [21]. Si trovano inoltre pubblicati altri contributi che vertono su tematiche quali le basi teoriche e metodologiche della misura degli ormoni tiroidei liberi [22], la valutazione dei

metodi di calibrazione in uso nei sistemi automatizzati [23] e le prestazioni analitiche dei saggi qualitativi [24]. E finanche un'originale pubblicazione relativa ai primi tentativi di miglioramento dell'appropriatezza prescrittiva mediante diffusione di linee guida e consulenza telematica online [25].

A partire dalle suggestioni del volume 0 di *Ligandassay*, vedremo qual è stato il percorso analitico e clinico dell'applicazione di alcuni dei saggi con ligando in questi decenni.

I diversi contributi mostreranno inevitabilmente una certa eterogeneità, che è il riflesso della disparità tra i parametri considerati e della loro storia evolutiva. Ad esempio, mentre per i marcatori di danno miocardico, sviluppatasi in tempi relativamente brevi, viene dedicato più spazio agli sviluppi tecnico-analitici, per i marcatori tumorali, che hanno avuto un percorso storico più lungo, l'analisi si concentra sull'appropriatezza di utilizzo e sulla modalità di conduzione degli studi clinici.

BIBLIOGRAFIA

1. **Malvano R, Zucchelli GC.** Editoriale. *Ligandassay* 1995;0:I-II
2. **Ekins R.** International standards and immunoassay standardisation: valid concepts or bureaucratic fantasies? *Ligandassay* 1995;0:1-12
3. **Plebani M.** Harmonization in laboratory medicine: the complete picture. *Clin Chem Lab Med.* 2013;51:741-51
4. **Greenberg N.** Update on current concepts and meanings in laboratory medicine—standardization, traceability and harmonization. *Clin Chim Acta* 2014;432:49–54
5. **Thelen M, Vanstapel F, Brguljan PM, et al.** Documenting metrological traceability as intended by ISO 15189:2012: a consensus statement about the practice of the implementation and auditing of this norm element. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:459–64
6. Centers for Disease Control and Prevention. Laboratory quality assurance and standardization programs: Hormone standardization program. [<https://www.cdc.gov/clinical-standardization-programs/php/vitamin-d>. Ultimo accesso: gennaio 2025]
7. **Tate JR, Bunk DM, Christenson RH, et al.** Evaluation of standardization capability of current cardiac troponin I assays by a correlation study: results of an IFCC pilot project. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:677-90
8. IFCC Standardisation of Troponin I Working Group. <https://ifcc.org/ifcc-scientific-division/sd-working-groups/wg-tni>. [Ultimo accesso: febbraio 2025]
9. **Thienpont LM, Van UK, Van HS, et al.** A progress report of the IFCC Committee for Standardization of Thyroid Function Tests. *Eur Thyroid J* 2014;3:109-16.
10. ISO 21151:2020. In vitro diagnostic medical devices - requirements for international harmonisation protocols establishing metrological traceability of values assigned to calibrators and human samples. Geneva [Switzerland]: ISO; 2020.
11. **Thienpont LM, Van Uytanghe K, De Grande LAC, et al.** Harmonization of serum thyroid-stimulating hormone measurements paves the way for the adoption of a more uniform reference interval. *Clin Chem* 2017;63:1248–60
12. **Clerico A, Ripoli A, Zucchelli GC, et al.** Harmonization protocols for thyroid stimulating hormone [TSH] immunoassays: different approaches based on the consensus mean value. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:377-82
13. **Clerico A, Ripoli A, Fortunato A, et al.** Harmonization protocols for TSH immunoassays: a multicenter study in Italy. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1722-33
14. **Padoan A, Clerico A, Zaninotto M, et al.** Percentile transformation and recalibration functions allow harmonization of thyroid-stimulating hormone [TSH] immunoassay results. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1663-72
15. **Miller WG, Greenberg N.** Harmonization and standardization: where are we now? *J Appl Lab Med.* 2021;6:510-21
16. **Plebani M, Lippi G.** Standardization and harmonization in laboratory medicine: not only for clinical chemistry measurands. *Clin Chem Lab Med* 2023;61:185–7
17. **Bombardieri E, Massaron S, Seregini E.** Standardizzazione dell'impiego clinico dei marcatori tumorali circolanti. *Ligandassay* 1995;0:13-7
18. **Zucchelli GC, Pilo A, Chiesa MR, et al.** Problemi di standardizzazione nella determinazione dei marcatori tumorali. *Ligandassay* 1995;0:22-31
19. **Martelli P, Modolo ML, Crovatto M, et al.** Problemi generali di standardizzazione in sierologia. *Ligandassay* 1995;0:39-42
20. **Reed DL, Chin D, Chan L.** HIV -1 Western Blot standardization. *Ligandassay* 1995; 0: 43-7
21. **Crovatto M, Ceselli S, Pivetta B, et al.** La standardizzazione della PCR nella diagnostica microbiologica. *Ligandassay* 1995;0:48-52
22. **Giraudi G, Baggiani C.** La misura delle frazioni libere degli ormoni tiroidei. *Ligandassay* 1995;0:32-8
23. **Messeri G.** Sistemi automatici per immunometria: affidabilità dei metodi di calibrazione. *Ligandassay* 1995;0:64-6
24. **Malvano R, Chiecchio A, De Alexandris P, et al.** La valutazione delle prestazioni analitiche dei saggi qualitativi: l'esempio dei test per HbsAg. *Ligandassay* 1995;0:53-9
25. **Gion M, Mione R, Dittadi R, et al.** Telematica e linee guida per l'uso clinico dei marcatori tumorali. *Ligandassay* 1995;0:18-21

Per corrispondenza:

Dott. Ruggero Dittadi
già UOC Medicina di laboratorio
Ospedale dell'Angelo – ULSS3 Serenissima
Via Paccagnella 11
30174 – Mestre (VE)
Tel.: 340 3212194
E-mail: rogegru@gmail.com