

PTH [Hormone Parathyroïdienne] Intacte ELISA [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay]

REF 7022

Test quantitatif spécifique de
l'hormone parathyroïdienne intacte dans le sérum

Janvier 2018



I APPLICATION

Le test PTH intacte ELISA de Biomerica sert à déterminer la quantité de PTH intacte (hormone parathyroïdienne intacte ou iPTH) dans le sérum humain. Ce dosage sert uniquement à un diagnostic in vitro.

II. RÉSUMÉ EXPLICATIF

La PTH (hormone parathyroïdienne ou parathormone ou parathyrine) est synthétisée par le corps dans la glande parathyroïde en tant qu'hormone pré-proparathyroïdienne, un précurseur moléculaire plus large composé de 115 acides aminés. À la suite d'un clivage intracellulaire séquentiel d'une chaîne de 25 acides aminés, une hormone pré-proparathyroïdienne est convertie en hormone parathyroïdienne intermédiaire, un polypeptide composé de 90 acides aminés. Une modification protéolytique ultérieure entraîne la conversion de l'hormone parathyroïdienne en hormone parathyroïdienne, un polypeptide de 84 acides aminés. Chez les individus sains, la sécrétion de l'hormone parathyroïdienne est normalement régulée par un rétrocontrôle négatif du calcium dans le sérum sur les glandes parathyroïdes. L'iPTH est biologiquement active et est très rapidement éliminée de la circulation, sa demi-vie étant de moins de quatre minutes¹. L'hormone parathyroïdienne subit une protéolyse dans les glandes parathyroïdes, mais plus généralement en périphérie, en particulier dans le foie, les reins et les os pour former des fragments N-terminal et des fragments C-terminal et région centrale à durée de vie plus longue. Chez les sujets souffrant d'insuffisance rénale, les dosages de PTH dans les fragments C-terminal et région centrale donnent généralement des résultats d'hormone parathyroïdienne élevés, qui se traduisent par une altération de la clairance rénale².

III. IMPORTANCE CLINIQUE

Les dosages d'iPTH sont importants pour différencier l'hyperparathyroïdie primaire d'autres formes d'hypercalcémie (non liées à la glande parathyroïde), dues à une affection maligne, à une sarcoïdose ou à une thyrotoxicose². Mesurer la quantité d'hormone parathyroïdienne est la méthode la plus spécifique pour diagnostiquer une hyperparathyroïdie primaire. En présence d'hypercalcémie, un taux élevé d'hormone parathyroïdienne établit pratiquement le diagnostic. Chez les patients atteints d'hyperparathyroïdie primaire, le taux d'hormone parathyroïdienne sera élevé³ dans plus de 90 % des cas.

L'autre cause la plus courante d'hypercalcémie, à savoir une tumeur maligne, est associée à de bas niveaux d'hormone parathyroïdienne³ ou à des niveaux PTH normaux⁴. Quand on a relevé le niveau d'iPTH pour le comparer à la quantité de calcium dans le sérum, on a presque toujours constaté que la concentration d'iPTH, chez les patients atteints d'hypercalcémie due à une tumeur maligne, est anormalement basse par rapport au taux élevé de calcium^{3,4,5}.

Alors que les taux de PTH dans les fragments C-terminal et région centrale sont, en général, excessivement élevés chez les sujets souffrant d'insuffisance rénale, les dosages de PTH intacte sont moins influencés par cette détérioration de la fonction rénale⁵.

Dans l'hypocalcémie due à une hypoparathyroïdie totale, les quantités de PTH sont généralement imperceptibles mais elles se présentent à des niveaux normaux si l'hypocalcémie résulte d'une perte partielle ou d'une inhibition des fonctions de la glande parathyroïde.

IV. PRINCIPE DU TEST

Le dosage immunologique PTH intacte de Biomerica est un test ELISA [Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay] à deux sites (« en sandwich »), servant à mesurer la chaîne de PTH biologiquement intacte, composée de 84 acides aminés. Deux différents anticorps polyclonaux de chèvres anti-PTH humaine ont été purifiés par chromatographie d'affinité afin de pouvoir être appliqués spécifiquement à des régions bien définies sur la molécule de PTH. Un des anticorps, biotinylé, est préparé pour se lier uniquement à la séquence 39 à 84 de la PTH dans les fragments C-terminal et région centrale.

L'autre anticorps est préparé pour se lier uniquement à la section 1 à 34 de la PTH dans le fragment N-terminal et est marqué à la peroxydase de raifort (HRP) pour la détection.

Puits recouvert de Streptavidine - Anti-PCTH (39-84) biotinylé --
PTH intacte -- Conjugué HRP-Anti-ACTH (1-34)

Bien que les fragments C-terminal et région centrale soient liés par l'anti-PTH (39 à 84) biotinylé, seule la séquence 1 à 84 de la PTH intacte forme le complexe en sandwich nécessaire pour la détection. La capacité de l'anticorps biotinylé et le micropuits recouvert de streptavidine ont été tous les deux réglés de manière à ne pas subir d'interférence des fragments inactifs, même à des niveaux très élevés.

Dans ce dosage, les étalons, les contrôles ou les échantillons des patients ont été simultanément incubés avec l'anticorps marqué à l'enzyme et avec un anticorps couplé à la biotine dans un puits à microplaques recouvert de streptavidine. À la fin de l'incubation, les composants libres sont retirés du puits par lavage et l'enzyme liée à la phase solide est incubée avec le substrat, le tétraméthylbenzidine (TMB). On ajoute alors une solution bloquante acide pour arrêter la réaction dont la couleur devient jaune. L'intensité de la couleur jaune est directement proportionnelle à la concentration de PTH intacte dans l'échantillon. À l'aide des résultats fournis par les étalons, on crée une courbe dose-réponse indiquant l'unité d'absorbance en fonction de la concentration. Les concentrations de PTH intacte présentes dans les contrôles et les échantillons des patients sont directement déterminées à partir de cette courbe.

V. COMPOSANTS DE LA TROUSSE

Éléments de la trousse	Description	Quantité
RGT 1 = Réactif 1	Anticorps anti-PTH biotinylé	1 x 7,0 ml
RGT 2 = Réactif 2	Anticorps anti-PTH marqué à l'enzyme peroxydase	1 x 7,0 ml
RGT B = Réactif B	Substrat TMB [tétraméthylbenzidine]	1 x 20 ml
RGT 3 = Réactif 3	Diluant [sérum de cheval] pour les échantillons de patients lus en dehors des limites	1 x 2 ml
RGT A = Réactif A	Solution concentrée de lavage ELISA [saline avec surfactant]	1 x 30 ml
SOLN = Solution bloquante	Solution bloquante ELISA (acide sulfurique 1N)	1 x 20 ml
RGT 4 = Réactif 4	Solution de reconstitution contenant le surfactant	1 x 5 ml
PLA = Microplaques	Un support avec des bandelettes recouvertes de streptavidine.	12 x 8 bandelettes de puits
CAL = Étalons A : 0 pg/ml B : Voir les concentrations C : exactes sur les D : étiquettes des E : tubes F :	PTH humaine synthétique lyophilisée. Étalon zéro lyophilisé [solution BSA avec du sérum de chèvre]. Tous les autres étalons consistent en PTH humaine (1 à 84) synthétique dans une solution BSA avec du sérum de chèvre.	1 x 0,5 ml par niveau
CTRL = Contrôles 1 et 2 Voir les limites exactes sur les étiquettes des tubes	Lyophilisés. 2 niveaux. PTH humaine (1 à 84) synthétique dans une solution BSA avec du sérum de chèvre.	1 x 0,5 ml par niveau

MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Lecteur de microplaques
- Laveur de microplaques [sinon, un lavage manuel peut être acceptable]
- Pipettes de précision pour 25, 100 et 150 µl
- (Facultatif) : Distributeur multi-canaux ou à répétition pour 50, 100 et 150 µl
- Agitateurs pour microplaques : Biomerica a mis au point des agitateurs aux diamètres indiqués ci-dessous ; les kits de streptavidine assureront une réponse de performance optimale aux réglages de la vitesse suivants :

Agitateurs pour microplaques	Diamètre d'agitation	Réglage de la vitesse
Orbital	3 mm (0.118 in)	600 ± 10 tr/min
	19 mm (0.75 in)	170 ± 10 tr/min
Linéaire	25 mm (0.98 in)	170 ± 10 tr/min

VI. AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Bien que les réactifs fournis dans cette trousse aient été spécifiquement composés pour ne pas contenir d'éléments de sang humain, les échantillons de patients humains, qui peuvent être positifs aux anticorps HBsAg, HBcAg ou VIH, doivent impérativement être traités comme des risques biologiques potentiellement infectieux. Les précautions d'usage pour la manipulation d'échantillons de patients non testés doivent être suivies.

La solution bloquante consiste en acide sulfurique 1N. Il s'agit d'un acide corrosif. Quoique dilué, il doit être manipulé avec soin. Il est conseillé de porter des gants, des lunettes de sécurité et des vêtements de protection appropriés pour éviter tout risque de brûlure. Laver immédiatement tout acide déversé avec de grandes quantités d'eau. Ne pas respirer la vapeur et éviter l'inhalation.

Divers types d'agitateurs dotés de caractéristiques techniques différentes sont disponibles dans le commerce. Au cas où l'agitateur pour microplaques ne se situait pas entre les valeurs indiquées ci-dessus, chaque laboratoire est encouragé à définir ses propres limites optimales.

VII. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Le dosage de la PTH intacte doit être effectué avec du plasma EDTA ou du sérum. On a observé une meilleure stabilité de la PTH avec du plasma EDTA qu'avec du sérum⁶. Il est nécessaire de disposer de 50 µl de sérum ou de plasma EDTA pour pouvoir doser l'échantillon en double exemplaire. Prélever du sang entier sans tube avec anticoagulant EDTA (lavande). Après avoir laissé le sang se coaguler, séparer rapidement le sérum ou le plasma avec une centrifugeuse réfrigérée de préférence et conserver à une température inférieure ou égale à -20 °C. Les échantillons de sérum peuvent être conservés jusqu'à 8 heures entre 2° et 8 °C. S'ils sont congelés à -20°C, ils restent stables jusqu'à 4 mois.

VIII. PRÉPARATION ET STOCKAGE DES RÉACTIFS

Conserver tous les éléments de la trousse entre 2° C et 8° C.

Tous les réactifs à l'exception des étalons, des contrôles et de la solution concentrée de lavage sont prêts à l'emploi. Conserver tous les réactifs entre 2° C et 8° C.

Reconstituer chaque fiole des étalons (étalon A à F) et des contrôles 1 et 2 de la trousse avec 500 µl de Réactif 4 (solution de reconstitution) et mélanger. Laisser reposer pendant 10 minutes, puis mélanger complètement par retournements pour obtenir une reconstitution totale. **Utiliser les étalons et les contrôles dès que possible après reconstitution. Congeler (à -20 °C) les étalons et contrôles restants dès que possible après emploi.** Les normes et les contrôles demeurent stables à -20 °C pendant 6 semaines après reconstitution et supportent jusqu'à 3 cycles de congélation-décongélation, s'ils sont manipulés conformément aux instructions de la section « Remarques sur les procédures ».

1. Réactif A : Solution concentrée de lavage : Bien mélanger le contenu de la solution concentrée de lavage. Si un précipité apparaît dans cette solution après conservation à basse température, par exemple 4 °C, le dissoudre en plaçant la fiole dans un bain-marie ou un four à 37 °C et en agitant le contenu. Ajouter la solution concentrée de lavage (30 ml) à 570 ml d'eau distillée ou déminéralisée et mélanger. La solution de lavage active diluée est stable pendant 90 jours si elle est conservée à température ambiante.

IX. PROCÉDURE DE DOSAGE

- Placer un nombre suffisant de **bandelettes recouvertes de streptavidine** dans un support pour tester tous les six (6) étalons de PTH, ÉTALONS A à F de PTH intacte (la concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de la fiole), les sérums de contrôle qualité et les échantillons de patients. Au minimum, désigner deux puits pour servir de « blancs ». **Se référer à l'étape 9 pour la lecture finale de la plaque.**
- Pipeter **25 µl** d'étalons, de contrôles et d'échantillons dans le puits approprié. **Congeler (à -20 °C) les étalons et contrôles restants dès que possible après emploi.**
- Ajouter ou administrer **50 µl** de Réactif 1 (anticorps biotinylé) dans chaque puits contenant les étalons, les contrôles et les échantillons.
- Ajouter ou administrer **50 µL** de réactif 2 (anticorps marqué à l'enzyme) dans chacun des mêmes puits. Recouvrir la plaque ou les plaques d'une feuille d'aluminium ou avec un plateau afin d'éviter l'exposition à la lumière. Les placer sur un **agitateur** ajusté aux réglages recommandés (voir la section V) pendant **3 heures ± 30 minutes** à température ambiante (22 °C à 28 °C).
- Aspirer tout le fluide, puis laver ou aspirer chaque puits cinq (5) fois avec la solution de lavage active (préparée avec le Réactif A) dans un laveur de microplaques automatique. Il est recommandé de limiter le volume de solution de lavage à verser dans chaque puits à 0,35 ml.
- Ajouter ou administrer **150 µl** de Réactif B (substrat TMB) dans chacun des puits.
- Après avoir recouvert la plaque ou les plaques afin d'éviter l'exposition à la lumière, la (ou les) placer les microplaques sur un **agitateur** ajusté aux réglages recommandés (voir la section V) pendant **30 ± 5 minutes** à température ambiante (22 °C à 28 °C).
- Ajouter ou administrer **100 µl** de solution bloquante dans chacun des puits. Mélanger délicatement.
- Lire l'absorbance de la solution dans les puits au bout de 10 minutes avec un lecteur de microplaques réglé à **450 nm**. Avant la lecture, s'assurer que les deux « puits blancs » mentionnés à l'étape 1 sont remplis de 250 µl d'eau distillée ou déminéralisée. **Lire la plaque une autre fois** avec le lecteur réglé à **405 nm** si on utilise de l'eau distillée ou déminéralisée.

Remarque : La deuxième lecture permet d'étendre la validité analytique de la courbe d'étalonnage jusqu'à la valeur la plus élevée représentée par un étalon, qui est d'environ 700 – 1000 pg/ml. En conséquence, les échantillons de patients ayant une PTH > 200 pg/ml peuvent être quantifiés et comparés à toutes les valeurs indiquées par la courbe d'étalonnage jusqu'à celle de la concentration la plus élevée, à l'aide d'une lecture à 405 nm, loin de la longueur d'onde de l'absorbance maximale. En général, il est conseillé de lire les échantillons de patients et de contrôles avec un lecteur réglé sur 450 nm pour les concentrations de PTH jusqu'à 200 pg/ml. Les concentrations de PTH supérieures à 200 pg/ml doivent être

interpolées avec une lecture à 405 nm.

- À partir des valeurs finales d'absorbance obtenues dans l'étape précédente, tracer une courbe d'étalonnage utilisant une interpolation par spline cubique, par 4 PL ou point à point pour quantifier la concentration de PTH intacte.

REMARQUES SUR LES PROCÉDURES

- La PTH intacte 1 à 84 est une molécule très labile. Effectuer le dosage immédiatement après la reconstitution ou la décongélation de tous les étalons, contrôles et échantillons de patients.
- Il est recommandé d'exécuter tous les dosages en double exemplaire. Utiliser ensuite la moyenne des unités d'absorbance des deux séries d'exemplaires pour réduire les données et calculer les résultats.
- Il est conseillé d'éviter la formation de bulles lorsqu'on pipette les échantillons dans le puits. Pour ce faire, suivre la méthode de « pipetage à l'envers » décrite dans la notice incluse dans l'emballage des pipettes.
- Les échantillons de patients dont les valeurs sont supérieures à celles de l'étalon le plus élevé (étalon F), environ 700 – 1000 pg/ml (voir la concentration exacte sur l'étiquette de la fiole), peuvent être dilués avec le Réactif 3 (diluante pour échantillon) et dosés à nouveau. Multiplier le résultat par le facteur de dilution.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.
- De préférence, mélanger des volumes égaux de Réactif 1 (anticorps biotinylé) et de Réactif 2 (anticorps marqué à l'enzyme) et en quantités suffisantes pour le dosage dans un flacon propre de couleur ambre. Verser ensuite 100 µl de ce mélange dans chaque puits. Cette méthode remplace les étapes 3 et 4 de l'autre procédure et doit être suivie de l'incubation dans un agitateur orbital.

X. CALCUL DES RÉSULTATS

Méthode d'ajustement des courbes : les programmes informatiques utilisant une courbe spline cubique ou 4 PL donnent généralement des résultats convenables.

Remarque importante : si la lecture à 450 nm de la densité optique (DO) du calibre A après la remise à zéro $\geq 0,100$, la courbe n'est pas valide et les résultats de l'échantillon patient ne devraient pas être reportés.

Données d'échantillon à 450 nm [lecture de l'unité d'absorbance brute par rapport à de l'eau distillée ou déminéralisée]

Puits de microplaque	1 ^{ère} lecture Unité d'absorbance	2 ^{ème} lecture Unité d'absorbance	Moyenne Unité d'absorbance	PTH intacte pg/ml	PTH intacte pg/ml – Résultat à reporter
Étalon A	0,020	0,016	0,018		0
Étalon B	0,056	0,051	0,054		7
Étalon C	0,124	0,119	0,122		18
Étalon D	0,388	0,393	0,391		55
Étalon E	1,335	1,340	1,338		210
Contrôle 1	0,200	0,200	0,200	27,6	27,6
Contrôle 2	0,804	0,794	0,799	119	119
Patient Échantillon 1	0,147	0,136	0,142	19,1	19,1
Patient Échantillon 2	0,407	0,409	0,408	58,5	58,5
Patient Échantillon 3	2,375	2,454	2,415	> 200	*
Patient Échantillon 4	3,725	3,725	3,725	> 200	*

* La concentration lue étant > 200 pg/ml, il est recommandé d'utiliser les données obtenues à 405 nm reportées dans le tableau ci-après, **Données d'échantillon à 405 nm**.

Données d'échantillon à 405 nm [lecture de l'unité d'absorbance brute par rapport à de l'eau distillée ou déminéralisée]

Puits de microplaque	1 ^{ère} lecture Unité d'absorbance	2 ^{ème} lecture Unité d'absorbance	Moyenne Unité d'absorbance	PTH intacte pg/ml	PTH intacte pg/ml – Résultat à reporter
Étalon A	0,014	0,008	0,011		0
Étalon D	0,124	0,128	0,126		55
Étalon E	0,428	0,425	0,427		210
Étalon F	1,309	1,317	1,313		700
Contrôle 1	0,074	0,066	0,070	< 200	¶
Contrôle 2	0,260	0,251	0,256	121	¶
Patient Échantillon 1	0,049	0,043	0,046	< 200	¶
Patient Échantillon 2	0,132	0,133	0,133	< 200	¶
Patient Échantillon 3	0,758	0,782	0,770	401	401
Patient Échantillon 4	1,314	1,321	1,318	> 700	⇐

¶ Pour les échantillons dont la lecture est < 200 pg/ml, il est recommandé d'utiliser les données obtenues à 450 nm reportées dans le tableau précédent, **Données d'échantillon à 450 nm**. Cette procédure devrait donner les résultats avec la meilleure sensibilité du dosage.

¶ Même si la lecture du contrôle (2) indique une valeur < 200 pg/ml, il est recommandé de lire et d'enregistrer le résultat réel pour l'évaluation du contrôle

qualité. En outre, l'absorbance du contrôle 2 est suffisamment élevée pour être valable pour l'analyse.

⇐ La lecture de l'absorbance est en dehors des limites ou supérieure à l'absorbance moyenne de l'étalon le plus élevé. Il est conseillé de retester l'échantillon avec dilution.

REMARQUE : Les données présentées le sont à titre indicatif et ne doivent pas être utilisées à la place des données obtenues lors du dosage.

XI. CONTRÔLE QUALITÉ

Il convient d'analyser le sérum ou les groupes de sérum du contrôle à chaque fois qu'on effectue un test d'étalons et d'échantillons de patients. Utiliser des méthodes statistiques appropriées pour évaluer si les résultats de l'analyse d'échantillons de contrôle sont acceptables. Si une ou plusieurs valeurs d'échantillon du contrôle qualité des dosages se situent en dehors des limites acceptables, les résultats de l'échantillon de patient ne devraient pas être considérés comme valables. Si la lecture à 450 nm de la densité optique (DO) du calibre A après la remise à zéro $\geq 0,100$, la courbe n'est pas valide et les résultats de l'échantillon patient ne devraient pas être reportés.

XII. LIMITES DE LA PROCÉDURE

La trousse PTH ELISA de Biomerica n'a montré aucun « effet crochet » avec des échantillons enrichis avec 2 100 000 pg/ml de PTH intacte. Toutefois, il est conseillé de diluer les échantillons dont les niveaux de PTH intacte sont supérieurs à l'étalon le plus élevé et de les doser à nouveau pour obtenir des valeurs correctes. Comme tout analyte utilisé en complément à un diagnostic, les résultats de PTH intacte doivent être interprétés avec soin en association avec les présentations cliniques globales et tout autre test diagnostique de support.

En raison de la relation entre la PTH et le calcium dans différents troubles, les résultats de la PTH devraient être interprétés en fonction de la quantité de calcium dans le sérum et de l'historique clinique du patient.

Le test PTH intacte ELISA de Biomerica détecte la PTH (1 à 84) non-intacte telle que le fragment de PTH (7 à 84). Le fragment de PTH (7 à 84) peut provoquer des résultats faussement élevés de PTH intacte chez les patients ayant une fonction rénale anormale, car ces patients peuvent avoir différentes concentrations de fragment de PTH (7 à 84) dans le sang. Chez les patients ayant une fonction rénale anormale, interpréter les résultats de PTH intacte avec prudence et ne pas prendre de décisions concernant la gestion des patients à partir du seul résultat de PTH intacte.

Les échantillons de patients régulièrement exposés à des produits d'origine animale ou à base de sérums animaux peuvent contenir des anticorps hétérophiles qui réagissent avec les anticorps des réactifs, ce qui risque d'entraîner des résultats faussement élevés. Ce dosage a été formulé pour atténuer le risque de ce type d'interférence. Cependant, des interactions potentielles peuvent survenir entre les sérums de patients et les éléments de test.

XIII. VALEURS ATTENDUES

Les niveaux d'hormone parathyroïdienne intacte ont été mesurés chez cent quarante-huit (148) individus apparemment sains, aux États-Unis, avec le test PTH intacte ELISA. Les valeurs obtenues se situaient entre 9,0 et 94 pg/ml pour le sérum. Selon les tests statistiques sur l'asymétrie et l'aplatissement, la population dont les données sont exprimées sous forme de logarithmes suit la distribution normale ou courbe de Gauss. Les écarts-types géométriques ± 2 de la moyenne devraient se situer entre 10,4 et 66,5 pg/ml pour le sérum.

XIV. CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Traçabilité

Les étalons de PTH intacte de Biomerica sont conformes au recombinant NIBSC 95/646 de la PTH (1 à 84) de la norme internationale de l'OMS.

1,0 pg/ml = 1,07 pg/ml NIBSC 95/646

Précision

Trois cent neuf (309) échantillons de patients dont les valeurs de PTH intacte varient de 1,0 à 833 pg/ml ont été testés avec la trousse PTH précédente de Biomerica et la trousse PTH mise à jour de Biomerica. L'analyse de régression linéaire donne les statistiques suivantes :

Biomerica ELISA = 1,06 La trousse ELISA - 1,49 pg/ml
 $r = 0,998$ N = 309

Sensibilité

La sensibilité (ou limite minimale de détection) de ce dosage est définie comme la valeur la plus basse pouvant être distinguée de zéro à la limite de confiance de 95 %. La sensibilité du test PTH ELISA de Biomerica est de 1,57 pg/ml, selon les calculs.

Spécificité et réactivité croisée

Les anticorps utilisés dans le test PTH ELISA de Biomerica ont été purifiés par chromatographie d'affinité afin de pouvoir être appliqués spécifiquement à des régions bien définies de la molécule de PTH. L'anticorps marqué à la peroxydase ne reconnaît que la région N-terminal ou la séquence d'acides aminés 1 à 34 de la molécule de PTH tandis que l'anticorps biotinylé est spécifique au segment 39 à 84. En conséquence, seule la PTH intacte qui nécessite une liaison par les deux anticorps à la fois, celui conjugué à l'enzyme et celui biotinylé, peut être détectée par ce dosage.

La conjugaison, la biotinylation et les rapports molaires mentionnés précédemment ont été optimisés de façon à minimiser la détection des fragments de PTH et à affiner la spécificité de ce dosage. La séquence 1 à 34 de la PTH humaine aux niveaux ne dépassant pas 300 pg/ml et le fragment 39 à 84 de C-terminal aux niveaux non au-delà de 300 000 pg/ml produisent des réactivités croisées molaires anti-PTH inférieures à 2 % et 0,02 % respectivement.

La séquence 7 à 84 de la PTH humaine à un niveau ne dépassant pas 1 000 pg/ml a montré une réactivité croisée de 44,5 %.

Précision et reproductibilité

La précision (variation intra-essai) du test PTH ELISA de Biomerica a été calculée à partir de 25 dosages réitérés sur chacun des deux échantillons.

Variation intra-essai			
Échantillon	Valeur moyenne (pg/ml)	N	Coefficient de variation %
A	32,4	25	6,08
B	178,2	25	3,68

La précision totale (variation intra-essai) du test PTH ELISA de Biomerica a été calculée à partir de données de deux échantillons, obtenues après 21 dosages effectués par trois techniciens sur trois lots différents de réactifs.

Variation inter-essais			
Échantillon	Valeur moyenne (pg/ml)	N	Coefficient de variation %
A	30,3	21	3,6
B	159,1	21	2,8

Récupération

On a ajouté des volumes différents de PTH 1 à 84 à trois sérums de patients différents pour déterminer la récupération. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Échantillon de sérum	PTH endogène (pg/ml)	PTH ajoutée (pg/ml)	Valeur attendue (pg/ml)	Valeur mesurée (pg/ml)	Récupération (%)
A	32,7	132	165	168	102 %
	20,6	264	285	288	101 %
	13,5	396	410	413	101 %
B	68,6	132	201	191	95 %
	51,7	264	316	344	109 %
	45,0	396	441	462	105 %
C	19,9	132	152	165	109 %
	15,4	264	279	275	99 %
	13,3	396	409	424	104 %

Moyenne 103 %

Linéarité des dilutions des échantillons de patients : Parallélisme

Quatre échantillons de sérum de patients ont été dilués avec du Réactif 3 (le diluant pour les échantillons de patients lus hors des limites). Les résultats en pg/ml sont indiqués ci-après :

Échantillon	Dilution	Valeur attendue	Valeur observée	% observé ÷ attendu
A	Non dilué	-	322	-
	1:2	161	148	92 %
	1:4	80,5	73,1	91 %
	1:8	40,3	41,5	103 %
B	Non dilué	-	230	-
	1:2	115	97	84 %
	1:4	58	55	95 %
	1:8	29	30	103 %
C	Non dilué	-	176	-
	1:2	88	82	93 %
	1:4	44	45	102 %
	1:8	22	24	109 %
D	Non dilué	-	426	-
	1:2	213	192	90 %
	1:4	107	90	84 %
	1:8	53	47	89 %

Moyenne 95 %

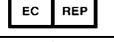
XV. RÉFÉRENCES

- Segre, G.V., Niall H.D., Habener J.F. et al. : Metabolism of parathyroid hormone: physiological and clinical significance. Am. J. Med. 56: 774,1974.
- Mallette, L.E., Gagel, R.F.: Parathyroid Hormone and Calcitonin. In: Murray J.F. (ed) Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. American Society for Bone and Mineral Research, Kelseyville; William Byrd Press, Richmond, pp. 65-69, 1990.
- Bilezikian, J.P.: Primary Hyperparathyroidism. In: Murray J.F. (ed) Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. American Society for Bone and Mineral Research, Kelseyville; William Byrd Press, Richmond, pp. 109-111, 1990.
- Stewart, A.F.: Humoral Hypercalcemia of Malignancy. In: Murray J.F. (ed) Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. American Society for Bone and Mineral Research, Kelseyville; William Byrd Press, Richmond, pp. 115-118, 1990.
- Mallette, L.E.: The parathyroid polyhormones: New concepts in the spectrum of peptide hormone action. Endocrin. Rev. 12:110-117, 1991.
- Kruger, L., Rosenblum, S., Zaazra, J. and Wong, J. Intact PTH is stable in unfrozen EDTA plasma for 48 hours prior to laboratory Analysis. Clin. Chem. 41:6: page S47, 1995.

Bibliographie complémentaire :

- Raisz, L.G., Yajnik, C.H., Bockman, R.S., and Bower, B.B.: Comparison of commercially available parathyroid hormone immunoassay in the differential diagnosis of hypercalcemia due to primary hyperparathyroidism or malignancy. Ann. Intern. Med. 91:739-740, 1979.
- Endres, D., Brickman, A., Goodman, W., Maloney, D., and Sherrard, D.: N-Terminal PTH radioimmunoassays in assessment of renal osteodystrophy. Kidney International. 21:132, 1982.
- Dambacher, M.A., Fischer, J.A., Hunziker, W.H., et.al.: Distribution of circulating immunoreactive components of parathyroid hormone in normal subjects and in patients with primary and secondary hyperparathyroidism: the role of kidney and of the sérum calcium concentration. Clin. Sci. 57:435,1979.
- Kao, P.C., Jiang, N.S., Klee, G.G., and Purnell, D.C.: Development and validation of a new radioimmunoassay for parathyrin (PTH). Clin. Chem. 28:69, 1982.
- Endres, D.B., Villanueva, R., Sharp, C.F. Jr, Singer, F.R.: Measurement of parathyroid hormone. Endocrinol Metab. Clin. North Am. 18:611-629,1989.
- Kao, P.C., van Heerden, J.A., Grant, C.S., Klee, G.G., Khosla S: Clinical performance of parathyroid hormone immunometric assays. Mayo Clin. Proc. 67:637-645, 1992.
- Marcus, R.: Laboratory diagnosis of primary hyperparathyroidism. Endocrinol Metab. Clin. North Am. 18:647-658.

XVI. SYMBOLES

	Température de stockage
	Code du lot
	Date limite d'utilisation
	Fabricant
	Représentant autorisé
	Attention, voir les instructions
	Pour diagnostic in vitro
	N° de catalogue

XVI. RENSEIGNEMENTS POUR LES COMMANDES

COMMANDES : Envoyer les commandes à :

 BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, CA 92614
États-Unis

2°C/8°C





Téléphone : (949) 645-2111
FAX : (949) 553-1231
Site Web : www.biomerica.com
E-mail : bmra@biomerica.com

67022-16_fre.doc

Janvier 2018



selon IVDD 98/79/ CE
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Allemagne