

# Calcitonine ELISA

REF 7024

Test quantitatif spécifique de la calcitonine dans le sérum

juillet 2018



## I. APPLICATION

Le test Calcitonine ELISA de Biomerica sert à déterminer la quantité de calcitonine dans le sérum humain. Ce dosage sert uniquement à un diagnostic in vitro.

## II. RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La calcitonine, un polypeptide de 32 acides aminés, est sécrétée principalement par les cellules parafolliculaires (cellules C) de la glande thyroïde. Sa principale action biologique consiste à inhiber la résorption osseuse ostéoclastique. Cette propriété a entraîné l'utilisation de la calcitonine dans les maladies caractérisées par une augmentation de la résorption osseuse, telles que la maladie de Paget, chez des patients souffrant d'une ostéoporose.

## III. IMPORTANCE CLINIQUE

Le syndrome clinique le plus apparent associé à l'hypersécrétion irrégulière de calcitonine est le carcinome médullaire de la thyroïde (CMT). Le CMT est une tumeur des cellules C de la glande thyroïde, qui produisent la calcitonine. Bien qu'il ne représente que 5 à 10% des cancers de la thyroïde, il est souvent fatal. Il peut survenir sporadiquement ou sous une forme familiale transmise comme un trait dominant autosomique. Le CMT est d'une grande importance clinique en raison de sa distribution familiale. En outre, il se prête à un diagnostic précoce par la présence de calcitonine dans le sérum et peut être complètement guéri dans le cas d'une maladie subclinique<sup>1</sup>. Celle-ci est fréquemment associée à d'autres caractéristiques cliniques et a de fortes possibilités d'être traitée chirurgicalement. Quoique rare, cette tumeur peut se produire dans un cadre héréditaire<sup>1,3,4</sup> sous forme de néoplasie endocrine multiple de type II. Ces tumeurs produisent habituellement des concentrations de calcitonine élevées dans le sérum, révélées par diagnostic. Par conséquent, le dosage immunologique de calcitonine sérique peut être utilisé pour diagnostiquer la présence d'un CMT, avec un degré remarquable de précision et de spécificité. Cependant, un pourcentage minime mais croissant de patients présente des taux d'hormones basales qui ne se distinguent pas de la normale<sup>1</sup>. Certains de ces sujets sont encore aux phases précoces d'une néoplasie ou hyperplasie des cellules C, se prêtant pour la plupart à des soins chirurgicaux. Pour identifier ces patients, il est nécessaire d'effectuer des tests provoquant la sécrétion de calcitonine pour exclure les faux négatifs dus à la détermination de la calcitonine basale uniquement. La plupart des tumeurs répondent par une augmentation du taux de calcitonine à l'administration de calcium<sup>5</sup>, de pentagastrine<sup>6</sup> ou d'un mélange des deux<sup>7</sup>. Mais il faut noter que l'un ou l'autre de ces agents risque toujours de fournir des résultats erronés. Il est donc conseillé de considérer l'utilisation de ces deux agents pour effectuer des tests de diagnostic dans le cas de manifestations cliniques. Par ailleurs, les dosages de calcitonine peuvent également être utiles pour observer l'efficacité de la thérapie chez les patients atteints de tumeurs dues à la calcitonine.

On a observé<sup>8</sup> la présence de multiples formes de calcitonine immunoréactive chez des sujets normaux comme chez des patients souffrant d'un CMT. Les poids moléculaires de ces diverses formes de calcitonine varient de 3400 (monomérique) à 70 000 Daltons (polymérique).

Il faut également noter que les maladies néoplasiques d'autres cellules neuroendocrines peuvent également accroître le taux de calcitonine. Le cancer pulmonaire à petites cellules en constitue le meilleur exemple. D'autres tumeurs tels que les carcinoïdes et les tumeurs des cellules des îlots pancréatiques peuvent également provoquer l'augmentation de la calcitonine sérique.

On a également observé une élévation du taux de calcitonine sérique dans les cas d'insuffisance rénale, aiguë et chronique, d'hypercalciurie et d'hypercalcémie.

## IV. PRINCIPE DU TEST

Le dosage immunologique Calcitonine de Biomerica est un test ELISA [Enzyme-Linked Immunosorbent Assay] à deux sites (« en sandwich »), servant à mesurer la chaîne de calcitonine biologiquement intacte, constituée de 32 acides aminés. Il utilise deux différents anticorps monoclonaux de souris anti-calcitonine humaine qui sont appliqués spécifiquement à des régions bien définies de la molécule de calcitonine. Un anticorps, celui biotinylé, se lie uniquement à la séquence 11 à 23 de la calcitonine.

L'autre anticorps ne se lie qu'à la section 21 à 32 de la calcitonine et est marqué à la peroxydase de raifort (HRP) pour la détection.

Puits recouvert de Streptavidine--Anti-Calcitonine biotinylé (11-23)--  
Calcitonine intacte--Conjugué HRP-anti-Calcitonine (21-32)

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. La calcitonine dans l'échantillon est ainsi prise « en sandwich » entre ces deux anticorps. 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 en calcitonine 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 calcitonine présentes dans les contrôles et les échantillons des patients sont directement déterminées à partir de cette courbe.

## V. ÉLÉMENTS DE LA TROUSSE

Éléments de la trousse	Description	Quantité
<b>RGT 1 = Réactif 1</b>	Anticorps anti-calcitonine biotinylé	1 x 7,0 ml
<b>RGT 2 = Réactif 2</b>	Anticorps anti-calcitonine marqué à l'enzyme peroxydase	1 x 7,0 ml
<b>RGT 3 = Réactif 3</b>	Solution de reconstitution contenant de l'EDTA	1 x 10 ml
<b>RGT A = Réactif A</b>	Solution concentrée de lavage ELISA [saline avec surfactant]	1 x 30 ml
<b>RGT B = Réactif B</b>	Substrat TMB [tétraméthylbenzidine]	1 x 20 ml
<b>SOLN = Solution bloquante</b>	Solution bloquante ELISA (acide sulfurique 1N)	1 x 20 ml
<b>PLA = Microplaques</b>	Un support avec des bandelettes recouvertes de streptavidine.	12 x 8 bandelettes de puits
<b>CAL = Étalons</b> A : 0 pg/ml B : C : D : Voir les concentrations E : exactes sur les F : étiquettes des tubes	Calcitonine humaine synthétique lyophilisée. Étalon zéro lyophilisé [solution BSA]. Tous les autres étalons consistent en Calcitonine humaine synthétique (1-32) dans une solution BSA calibrée selon WHO 2nd IS 89/620	1 x 2 ml pour l'étalon zéro  1 x 1 ml pour tous les autres étalons
<b>CTRL = Contrôles 1 et 2</b>  Voir les limites exactes sur les étiquettes des tubes	Lyophilisés. 2 niveaux. Calcitonine humaine synthétique (1-32) dans une solution BSA.	1 x 1 ml par niveau

## MATÉRIEL ET ÉQUIPEMENT NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Lecteur de microplaques capable d'évaluer l'absorbance à des longueurs d'onde de 450 nm et 405 nm.
- Laveur de microplaques [sinon, un lavage manuel peut être acceptable]
- Pipettes de précision pour 50, 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.

Si vous constatez une turbidité dans un quelconque réactif, ne réalisez pas l'analyse et contactez votre fournisseur.

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 calcitonine doit être effectué avec du sérum. Il est nécessaire de disposer de 200 µl de sérum pour pouvoir doser l'échantillon en double exemplaire. Prélever le sang entier sans anticoagulant. Après avoir laissé le sang se coaguler, séparer rapidement le sérum avec une centrifugeuse réfrigérée de préférence et conserver à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter les échantillons fortement hémolysés ou lipémiques.

## VIII. PRÉPARATION ET CONSERVATION DU RÉACTIF

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

1. 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° et 8 °C.
2. Reconstituer l'étalon A (étalon zéro standard) avec 2,0 ml d'eau distillée ou déminéralisée et mélanger. Reconstituer chaque fiole des étalons distincts de zéro (étalons B à F) et des contrôles 1 et 2 de la trousse avec 1,0 ml de Réactif 3 (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 les contrôles restants dès que possible après emploi dans un congélateur à dégivrage manuel.** 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 ».
3. **Réactif A ELISA** : 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

1. Placer un nombre suffisant de bandelettes recouvertes de streptavidine dans un support pour tester tous les six (6) étalons, ÉTALONS A à F de calcitonine (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.
2. Piper **100 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.**
3. Ajouter ou administrer **50 µl** de Réactif 1 (anticorps biotinylé) dans chaque puits contenant les étalons, les contrôles et les échantillons.
4. 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 **4 heures ± 30 minutes** à température ambiante (22 °C-28 °C).
5. Aspirer tout le fluide, puis laver et 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.
6. Ajouter ou administrer **150 µL** du réactif B (substrat TMB) dans chaque puits, à l'exception des puits vides.
7. 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-28 °C).
8. Ajouter ou administrer **100 µL** de la solution d'arrêt dans chaque puits, à l'exception des puits vides. Mélangez doucement.
9. Avant de passer aux mesures, assurez-vous que les « puits vides », tels que mentionnés à l'étape 1, sont remplis de 250 µL d'eau distillée ou désionisée. Videz le lecteur de plaque conformément aux instructions du fabricant, en

utilisant les puits vides.\*Mesurez l'extinction de la solution dans les puits dans un délai de 10 minutes, en utilisant un lecteur de microplaques réglé sur **450 nm**. **Mesurez** la plaque **une nouvelle fois** avec le lecteur réglé sur **405 nm**, toujours avec de l'eau distillée ou désionisée.

\*Si, pour des raisons techniques, il est impossible de régler le lecteur de plaques ELISA à zéro en utilisant un puits « vide », soustrayez la valeur d'extinction « vide » de toutes les autres valeurs d'extinction pour parvenir aux résultats.

*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 1000 pg/ml. En conséquence, les échantillons de patients ayant une calcitonine > 300 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 calcitonine ne dépassant pas 300 pg/ml. Les concentrations de calcitonine supérieures à 300 pg/ml doivent être interpolées avec une lecture à 405 nm.*

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

## REMARQUES SUR LES PROCÉDURES

- La calcitonine 1-32 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 les 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 1000 pg/ml (voir la concentration exacte sur l'étiquette de la fiole), peuvent être dilués avec l'étalon A (étalon zéro) 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 ambré. Le réactif combiné reste stable pendant sept (7) jours s'il est conservé à 4°C. Verser ensuite 100 µl de l'anticorps mélangé 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.
- Pendant le mélange, évitez toutes éclaboussures de réactifs hors des puits. Ceci risque d'altérer la précision.

## X. CALCUL DES RÉSULTATS

### Méthode manuelle

1. Pour les lectures à 450 nm, tracer une courbe dose-réponse (courbe d'étalonnage) à partir des valeurs des cinq premiers étalons fournis, soit les étalons A, B, C, D et E. Pour les lectures à 405 nm, élaborer une deuxième courbe dose-réponse avec les trois étalons ayant les concentrations les plus élevées, soit les étalons D, E et F.
2. Attribuer la concentration indiquée sur le tube en pg/ml à chaque étalon. Reporter les données de la courbe d'étalonnage sur du papier millimétré où l'axe X représentera la concentration et l'axe Y l'unité d'absorbance correspondante.
3. Tracer une ligne droite entre 2 points adjacents. Cet algorithme mathématique est appelé couramment le calcul « point à point ». Obtenir la concentration de l'échantillon en repérant l'unité d'absorbance sur l'axe Y et la valeur de concentration correspondante sur l'axe X. 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 calcitonine ne dépassant pas 300 pg/ml. Les concentrations de calcitonine supérieures à 300 pg/ml doivent être interpolées avec une lecture à 405 nm.

## Méthode automatique :

Les programmes informatiques utilisant une courbe spline cubique ou 4 PL ou une méthode point à point donnent généralement des résultats convenables.

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

Puits à microplaques	1 <sup>ère</sup> lecture Unité d'absorbance	2 <sup>ème</sup> lecture Unité d'absorbance	Moyenne Unité d'absorbance	Calcitonine [pg/ml]	Calcitonine pg/ml – Résultat à reporter
Étalon A	0,008	0,009	0,0085		0
Étalon B	0,059	0,064	0,0615		10
Étalon C	0,186	0,194	0,190		30
Étalon D	0,578	0,602	0,590		100
Étalon E	1,900	1,882	1,891		300
Contrôle 1	0,127	0,122	0,125	20,6	20,6
Contrôle 2	2,554	2,565	2,560	> 300	*
Échantillon du patient 1	0,034	0,040	0,037	4,7	4,7
Échantillon du patient 2	0,104	0,098	0,101	16,3	16,3
Échantillon du patient 3	0,397	0,411	0,404	68,7	68,7
Échantillon du patient 4	2,195	2,173	2,184	> 300	*

\* La concentration lue étant > 300 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 l'eau distillée ou déminéralisée]

Puits à microplaques	1 <sup>ère</sup> lecture Unité d'absorbance	2 <sup>ème</sup> lecture Unité d'absorbance	Moyenne Unité d'absorbance	Calcitonine [pg/ml]	Calcitonine pg/ml – Résultat à reporter
Étalon A	0,005	0,005	0,005		0
Étalon D	0,187	0,198	0,193		100
Étalon E	0,602	0,597	0,599		300
Étalon F	1,898	1,910	1,904		1000
Contrôle 1	0,045	0,044	0,045	< 300	¶
Contrôle 2	0,814	0,816	,815	403	403
Échantillon du patient 1	0,016	0,020	0,018	< 300	¶
Échantillon du patient 2	0,039	0,035	0,037	< 300	¶
Échantillon du patient 3	0,128	0,134	0,131	< 300	¶
Échantillon du patient 4	0,697	0,689	0,693	345	345

¶ Pour les échantillons dont la lecture est < 300 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.

**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, il se peut que les résultats de l'échantillon de patient ne soient pas valables.

## XII. LIMITES DE LA PROCÉDURE

La trousse Calcitonine ELISA de Biomerica n'a montré aucun « effet crochet » avec des échantillons enrichis avec 1 000 000 pg/ml de calcitonine pure intacte (1-32). L'échantillon enrichi a donné un résultat supérieur à la norme la plus élevée, c'est-à-dire 1000 pg/ml. Toutefois, il est conseillé de diluer les échantillons dont les taux de calcitonine 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 calcitonine doivent être interprétés avec soin en association avec les présentations cliniques globales et tout autre test diagnostique de support.

Les compléments contenant des niveaux de biotine élevés comme ceux commercialisés pour les bienfaits des cheveux, de la peau et des ongles, peuvent renfermer des quantités de biotine nocives. Des niveaux de biotine plus élevés que la dose journalière recommandée risquent de perturber l'analyse. Par conséquent, il est capital d'informer

les professionnels de santé et les patients de l'absorption de biotine au moment de prélever les échantillons afin d'éviter toute erreur dans les résultats d'analyse. Les résultats montrent que la concentration la plus élevée à laquelle aucune interférence significative n'a été observée est de 2 ng/mL de biotine D.

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

## XIII. VALEURS ATTENDUES

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence. Les données présentées ne doivent servir qu'à titre de *directives*. Les taux de calcitonine ont été mesurés chez cinquante-neuf (59) femmes apparemment saines et cinquante-deux (52) hommes apparemment sains, aux États-Unis, avec le test Calcitonine ELISA de Biomerica. Les valeurs obtenues chez les femmes saines s'étendaient de 0,1 à 10,9 pg/ml tandis que celles obtenues sur les hommes sains se situaient entre 0,2 et 27,7 pg/ml. 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  $\pm 2$  de la moyenne devraient se situer entre 0,07 et 12,97 pg/ml chez les femmes saines et entre 0,68 et 30,26 pg/ml chez les hommes sains d'après les calculs. Conformément aux rapports existants<sup>2,9</sup>, on a constaté des taux de calcitonine généralement plus bas chez les femmes saines que chez les hommes sains. Les valeurs de référence doivent donc être inférieures à 13 et 30 pg/ml pour les femmes et les hommes, respectivement.

## XIV. PERFORMANCES

### Précision

Soixante-dix-sept (77) échantillons de patients dont les valeurs de calcitonine varient de 0,8 à 3,113 pg/ml ont été testés selon la procédure ELISA de Biomerica et un test immunoradiométrique de calcitonine (trousse IRMA). L'analyse de régression linéaire donne les statistiques suivantes :

$$\text{Biomerica ELISA} = 0,940 \text{ trousse IRMA} + 6,55 \text{ pg/ml} \quad r = 0,993 \quad N = 123$$

Ensuite, cinquante et un (51) échantillons de patients dont les valeurs de calcitonine varient de < 0,7 à 2,240 pg/ml ont été testés selon la procédure ELISA de Biomerica et un dosage immunologique par chimioluminescence de calcitonine [ou ImmunoChemiluminescentMetricAssay (ICMA)]. L'analyse de régression linéaire donne les statistiques suivantes :

$$\text{Biomerica ELISA} = 1,094 \text{ trousse ICMA} - 6,13 \text{ pg/ml} \quad r = 0,995 \quad N = 123$$

### Sensibilité

La sensibilité, soit la limite minimale de détection, de ce dosage est définie comme étant la plus petite valeur distincte de zéro à la limite de confiance de 95 %. La sensibilité du test Calcitonine ELISA de Biomerica est de 1.0 pg/ml, selon les calculs.

### Précision et reproductibilité

La précision (variation intra-essai) du test Calcitonine ELISA de Biomerica a été calculée à partir de 20 dosages réitérés sur chacun des trois échantillons.

Échantillon	Variation intra-essai		Coefficient de variation %
	Valeur moyenne (pg/mL)	N	
A	24,3	20	5,7
B	94,9	20	4,3
C	403	20	2,8

La précision totale (variations intra-essai) du test Calcitonine ELISA de Biomerica a été calculée à partir de données de trois échantillons, obtenues après 15 dosages effectués par trois techniciens sur deux lots différents de réactifs pendant trois semaines.

### Variation inter-essais

Échantillon	Variation inter-essais		Coefficient de variation %
	Valeur moyenne (pg/mL)	N	
A	16,5	15	7,4
B	64,5	15	7,4
C	340	15	6,1

## Récupération

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

Échantillon de sérum	Calcitonine endogène (pg/ml)	Calcitonine ajoutée (pg/ml)	Valeur attendue (pg/ml)	Valeur mesurée (pg/ml)	Récupération (%)
A	0	--	--	--	--
	0	100	100	110	110 %
	0	200	200	217	109 %
B	9,7	--	--	--	--
	8,7	100	109	106	97 %
	7,8	200	208	207	100 %
C	0	--	--	--	--
	0	100	100	104	104 %
	0	200	200	205	103 %
D	5,7	--	--	--	--
	5,1	126	131	119	91 %
	4,6	220	225	203	90 %

## Spécificité et réactivité croisée

Réactif mixte	Concentration de réactif mixte	Calcitonine Sans réactif mixte [pg/ml]	Calcitonine avec réactif mixte [pg/ml]	Modification de la calcitonine [pg/ml]	% de réactivité croisée
PTH(1-84)	100,000 pg/mL	186	194	8	0,00800%
	30,000 pg/mL	186	200	14	0,04667%
	10,000 pg/mL	186	194	8	0,08000%
Peptide lié au gène de la calcitonine	1,000,000 pg/mL	200	202	2	0,00020%
	100,000 pg/mL	200	204	4	0,00400%
Calcitonine de saumon	1,000,000 pg/mL	191	194	3	0,00030%
	100,000 pg/mL	191	199	8	0,00800%
TSH	5000 uIU/ml	198	203	5	0,00061%
	500 uIU/ml	198	193	0	0,00000%
	50 uIU/ml	198	199	1	0,01220%

Chaque réactif mixte est enrichi dans un échantillon contenant de la calcitonine. Le taux de calcitonine est mesuré avant et après l'enrichissement. Aucun des réactifs mixtes n'interfère avec ce test Calcitonine ELISA. Les petites variations de calcitonine mesurées sont largement dans les limites des statistiques sur la précision intra-essai.

## Effet cinétique du dosage

Afin de déterminer s'il existe un effet cinétique systématique entre le début et la fin du dosage, trois groupes d'échantillons patients enrichis sélectionnés pour représenter les valeurs significatives de la concentration en calcitonine, ont été placés par ordre le long d'une microplaque ou de 96 puits [avec 12 bandelettes de 8 puits]. Les résultats ne montrent aucune dérive significative.

## Linéarité des dilutions d'échantillons de patients : Parallélisme









Six échantillons de sérum de patients ont été dilués avec l'étalon A (étalon zéro). Les résultats en pg/ml sont indiqués ci-après :

Échantillon	Dilution	Valeur attendue	Valeur observée	% Observée ÷ attendue
A	Non dilué	-	343	-
	1:2	172	168	98 %
	1:4	85,8	81,3	95 %
	1:8	42,9	40,3	94 %
B	Non dilué	-	271	-
	1:2	136	131	97 %
	1:4	67,8	70	103 %
	1:8	33,9	34,3	101 %
C	Non dilué	-	265	-
	1:2	133	134	101 %
	1:4	66	70,4	106 %
	1:8	33,1	32,5	98 %
D	Non dilué	-	>1000	-
	1:2	-	1060	-
	1:4	530	504	95%
	1:8	265	271	102%
E	Non dilué	-	231	-
	1:2	116	116	100%
	1:4	57,8	58,8	102%
	1:8	28,9	27,1	94%
	1:16	14,4	12,1	84%
F	Non dilué	-	>1000	-
	1:2	-	997	-
	1:4	499	429	86 %
	1:8	249	223	89 %
	1:16	125	119	95 %

## XV. RÉFÉRENCES :

- Deftos, L.J., **Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism**, (edited by Favus, N.J.), 1st Edition, American Society for Bone and Mineral Research, pp 53 – 55, 1990.
- Deftos, L.J., Weisman M.H., Williams G.H., Karpf, D.B., Frumar, A.M., Davidson, B.H., Parthemore, J.G., Judd, H.L., Influence of age and sex on plasma calcitonin in human beings. **N. Engl. J. Med.** 302:1351-1353, 1980.
- Travis, J.C., (ed) **Clinical Radioimmunoassay . . . State-of-the-Art, Scientific News Letters, Inc.** Radioassay - Legend Assay Publishers, Anaheim, CA 92803, 1980, 1st Edition.
- Austin, L.A., and Heath, H., III, Medical Progress, Calcitonin Physiology and Pathophysiology, **N. Engl. J. Med.** 304:269,1981.
- Pathemore, J.G., Bronzert, G.R., and Deftos, L.J., A short calcium infusion in the diagnosis of medullary thyroid carcinoma, **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 39:108,1974.
- Hennedssy, J.F., Wells, S.A., Ontjes, D.A., and Cooper, C.W., A comparison of pentagastrin injection and calcium infusion as provocative agents for the detection of medullary carcinoma of the thyroid, **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 39:487, 1974.
- Wells, S.A., Baylin, S.B., Linehan, W.M. et al, Provocative agents and the diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid gland. **Ann. Surg.** 188:139, 1978.
- Body J.J. and Heath III, H. Estimates of circulating monomeric calcitonin: physiological studies in normal and thyroidectomized man. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 57:897, 1983
- Tiegs R.D., Body J.J., Barta J.M., and Heath III, H. Secretion and metabolism of monomeric human calcitonin: effects of age, sex and thyroid damage. **J. Bone Min. Res.** 1:339,1986.

## XVI. SYMBOLES

	Température de conservation
	Code de fournée
	Expiration
	Fabricant
	Agent agréé
	Précaution, voir des instructions
	Pour un diagnostic in vitro
	N° de catalogue

## XVII. COMMANDE DE PRODUITS

COMMANDES :



Envoyer les commandes à :  
**BIOMERICA, INC.**  
 17571 Von Karman Avenue  
 Irvine, CA 92614  
 U.S.A.  
 (949) 645-2111  
 (949) 553-1231  
 www.biomerica.com  
 bmra@biomerica.com

2°C/8°C

Téléphone :  
 Fax :  
 Site Web :  
 E-mail :



67024-09\_fre.doc

juillet 2018



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