

 IMMULITE<sup>®</sup>  
2000

## **Intact PTH**

**DPC<sup>®</sup>**

# IMMULITE® 2000 Intact PTH

---

## English

---

**Intended Use:** For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE 2000 Analyzer — for the quantitative measurement of intact parathyroid hormone (parathyrin, PTH) in EDTA plasma and serum, as an aid in the differential diagnosis of hypercalcemia and hypocalcemia.

Catalog Number: **L2KPP2** (200 tests),  
**L2KPP6** (600 tests)

Test Code: **iPT** Color: **Dark Green**

CDC Analyte Identifier Code: 4924

CDC Test System Identifier Code: 10418

CLIA Complexity Category: Moderate

### Summary and Explanation

Parathyroid hormone (parathyrin, PTH), a single-chain polypeptide (with a molecular mass of approximately 9,500 daltons) containing 84 amino acids, exerts significant influence in the maintenance of optimal calcium ion concentrations. PTH raises serum ionized calcium levels through direct action on bone and the kidneys: it increases the rate of calcium ion flow from bone to the extracellular fluid, and increases both the renal tubular reabsorption of ionized calcium and the renal excretion of phosphate. Long-term regulation of total body calcium by PTH occurs through its stimulation of vitamin D metabolism, which results in enhanced intestinal absorption of ionized calcium.<sup>1</sup>

In healthy individuals, PTH is secreted in response to circulating calcium ion levels. Any dip below an individual's normal level triggers a pronounced increase in PTH secretion. Calcium levels returning to normal exert a negative feedback effect, thus inhibiting PTH secretion by the parathyroid glands.<sup>1</sup>

PTH undergoes proteolysis to a lesser extent in the parathyroid glands but mostly peripherally — especially in the liver but also in the kidneys and bone — to yield N-terminal fragments and longer lived C-terminal and midregion fragments. The N-terminal fragment contains the region that confers bioactivity. C-terminal and

N-terminal fragments are initially generated in equivalent amounts, but the N-terminal fragments disappear rapidly. The C-terminal fragment has a half-life of several hours. In renal failure, C-terminal fragment clearance by glomerular filtration is impaired, so that high levels are found. C-terminal assays (as well as midregion assays) are consequently likely to be especially unreliable in chronic renal failure, where increased PTH is typically just a reflection of impaired renal clearance.<sup>1,2</sup>

For the intact hormone, the *in vivo* half-life is 2 to 5 minutes.<sup>3</sup> Intact PTH clearance is accomplished by both peritubular uptake and glomerular filtration followed by reabsorption. In normal renal function, intact PTH is the greatest part of circulating PTH-like bioactivity<sup>4</sup> and is present in the circulation at concentrations of  $10^{-11}$  to  $10^{-12}$  mol/L.<sup>2</sup>

In hypercalcemia due to primary hyperparathyroidism or to ectopic PTH production (pseudohyperparathyroidism), the majority of patients have elevated PTH levels. By contrast, in hypercalcemia due to malignancy or other causes, the concentration of PTH in circulation is typically low or within normal reference range limits. PTH levels are also characteristically high in secondary hyperparathyroidism — usually associated with renal failure — as a result of constant stimulation of the parathyroid gland by low calcium levels. Hypocalcemia accompanied by a low PTH level, on the other hand, is to be expected in hypoparathyroidism, either postsurgical or idiopathic.<sup>2,5,6</sup>

Immunoassays specific for various PTH fragments have been developed. Most rely on antisera specific for a discrete region: the C-terminal, N-terminal, or midmolecule. The antisera employed in such assays recognize not only the specific region, but similar fragments as well.<sup>1,4</sup>

Recent assays for intact PTH have the necessary sensitivity for detecting circulating intact PTH in normals and for discriminating between normals and those with primary hyperparathyroidism. These

assays also appear to discriminate better between primary hyperparathyroidism and hypercalcemia of malignancy compared with previous assays, and do so virtually without any significant overlap between these groups.<sup>4</sup>

Much improved clinical sensitivity is reported for PTH assays when dynamic reference intervals (based on a range of serum PTH values obtained by acute modification of serum calcium concentrations in healthy subjects) are used, rather than a gaussian reference range (based on PTH values seen in normocalcemic individuals). Using an immunoradiometric assay for intact PTH and applying a dynamic reference range, Lepage, *et al.* obtained average clinical sensitivity of up to 100 percent with primary hyper- and hypoparathyroid samples. Moreover, only the intact PTH assay allowed complete separation between primary hyperparathyroid and nonparathyroidal hypercalcemic patients.<sup>7</sup>

### Principle of the Procedure

IMMULITE 2000 Intact PTH is a solid-phase, two-site chemiluminescent enzyme-labeled immunometric assay.

**Incubation Cycles:** 1 × 60 minutes.

### Specimen Collection

Because of the nocturnal rise in intact PTH levels, samples should be collected in the morning, after 7 a.m., preferably after an overnight fast. (A study by Logue *et al.* suggests that sampling after 10 a.m. may optimize discrimination between normal subjects and patients with mild primary hyperparathyroidism.<sup>8</sup>)

Collect blood by venipuncture into plastic EDTA plasma tubes or plain plastic serum tubes (with or without gel barrier), avoiding hemolysis. Both plasma and serum should be separated from the cells as soon as possible.

**For EDTA plasma,** keep specimens cold (2–8°C) throughout the collection and separation process. Separate the plasma from the cells, using a refrigerated centrifuge, if possible. Note that EDTA collection tubes must be filled to their capacity. Failure to completely fill the tube will result in excess concentration of EDTA

which will interfere with the assay, causing a false depression of values.

**For serum,** allow the specimens to clot at room temperature. Separate the serum from the cells, using a refrigerated centrifuge, if possible.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Lipemic, hemolyzed, icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE 2000 Intact PTH has been tested with plastic BD Vacutainer™ tubes (plain serum, SST and EDTA). It has not been tested with all possible variations of tube types.

**Volume Required:** 50 µL serum or plasma.

**Storage:** Samples can be stored at 2–8°C for up to 8 hours after collection. For longer storage, aliquot and freeze up to 2 months at –20°C.

### Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

**Reagents:** Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large

volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

**Chemiluminescent Substrate:** Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

**Water:** Use distilled or deionized water.

## Materials Supplied

Components are a matched set. Labels on the inside box are needed for the assay.

### Intact PTH Bead Pack (L2PP12)

With barcode. 200 beads, coated with affinity-purified murine monoclonal anti-PTH (44-84) antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

**L2KPP2:** 1 pack. **L2KPP6:** 3 packs.

### Intact PTH Reagent Wedge (L2PPA2)

With barcode. 11.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to affinity-purified goat polyclonal anti-PTH (1-34) in buffer, with preservative. Stable at 2–8°C until expiration date.

**L2KPP2:** 1 wedge. **L2KPP6:** 3 wedges.

Before use, tear off the top of the label at the perforations, without damaging the barcode. Remove the foil seal from the top of wedge; snap the sliding cover down into the ramps on the reagent lid.

### Intact PTH Adjustors (LPHL, LPHH)

Two vials (Low and High) of lyophilized, synthetic human intact PTH in a buffered matrix. Reconstitute each vial with **2.0 mL** distilled or deionized water, then place Adjustors on ice immediately. Mix by gentle, intermittent swirling. Use *only freshly reconstituted* Adjustors for each assay. *Do not freeze.*

**L2KPP2:** 3 sets. **L2KPP6:** 5 sets.

Before making an adjustment, place the appropriate Aliquot Labels (supplied with the kit) on test tubes so that the barcodes can be read by the on-board reader.

## Kit Components Supplied Separately

### Intact PTH Sample Diluent (L2PHZ)

For on-board dilution of high samples. 25 mL of concentrated (ready-to-use) PTH-free buffer matrix. Stable at 2–8°C

for 30 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

Barcode labels are provided for use with the diluent. Before use, place an appropriate label on a 16 × 100 mm test tube, so that the barcodes can be read by the on-board reader

**L2PHZ:** 3 labels

**L2SUBM:** Chemiluminescent Substrate

**L2PWSM:** Probe Wash

**L2KPM:** Probe Cleaning Kit

**LRXT:** Reaction Tubes (disposable)

**L2ZT:** 250 Sample Diluent Test Tubes (16 × 100 mm)

**L2ZC:** 250 Sample Diluent Tube Caps

**LPHCM:** Bi-level Intact PTH control, in a buffered matrix.

Also Required

Distilled or deionized water; test tubes; controls.

## Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE 2000 Operator's Manual.

See the IMMULITE 2000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

**Recommended Adjustment Interval:**

4 weeks.

**Quality Control Samples:** Use controls or patient sample pools with at least two levels (low and high) of intact PTH.

## Expected Values

A reference range study was conducted on matched EDTA plasma and serum samples from 88 apparently healthy volunteers, collected into BD plastic Vacutainer™ tubes. The matched samples were analyzed on IMMULITE/IMMULITE 1000 Intact PTH and on IMMULITE 2000 Intact PTH assays. Analysis of the data indicated no statistically significant difference between platforms, although there was a clear difference in reference ranges between EDTA plasma and serum. The reference ranges suggested by this study for IMMULITE/IMMULITE 1000 Intact PTH and IMMULITE 2000 Intact PTH for both EDTA plasma and serum are shown in the following table.

	Median	Central 95% Range (pg/mL)
EDTA Plasma	38	16 – 87
Serum	30	11 – 67

The reference range for serum is in good agreement with a previous multi-site reference range study, conducted with IMMULITE 2000 Intact PTH on 255 serum samples from apparently healthy subjects. This population yielded a median of 32 pg/mL. The reference range suggested by this study is:

12 – 65 pg/mL (1.3 – 6.8 pmol/L).

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

### Limitations

The assay is intended strictly as an aid in the differential diagnosis of hypercalcemia and hypocalcemia, *not* for the diagnosis or management of malignancy.

Because of the physiological relationship between circulating calcium and PTH, it is always important to interpret PTH results in the light of total or ionized calcium levels.<sup>9,10</sup> The finding of a persistently high-normal calcium accompanied by a high-normal PTH (alternatively, a low-normal calcium accompanied by a low-normal PTH) warrants further investigation; for the PTH, though itself within normal limits, may still be inappropriately high (or inappropriately low) relative to the circulating calcium level.<sup>11</sup>

Indices of renal function, e.g. creatinine levels; measurement of albumin, as an adjunct to measurement of *total* calcium levels;<sup>12-15</sup> and determinations of phosphorus,<sup>14,16</sup> chloride,<sup>12</sup> nephrogenous cyclic AMP<sup>14,17,18</sup> and possibly calcitonin,<sup>14</sup> may also (in certain circumstances) aid in the interpretation of PTH and calcium results. It should also be remembered that hypercalcemia and hypocalcemia may be secondary to disordered vitamin D metabolism.<sup>19</sup>

Lipemic, hemolyzed, icteric or grossly contaminated samples may give erroneous results.

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing

interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1998;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

### Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in pg/mL.

Unless otherwise specified, all performance data were generated with EDTA plasma samples.

**Conversion Factor:**  
pg/mL × 0.1053 → pmol/L

**Calibration Range:** Up to 2,500 pg/mL (263 pmol/L).

**Analytical Sensitivity:** 3.0 pg/mL (0.3 pmol/L).

**High-Dose Hook Effect:** None up to 500,000 pg/mL (50,000 pmol/L).

**Intraassay Precision:** Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

**Interassay Precision:** Statistics were calculated for samples assayed in 10 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

**Linearity:** Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

**Recovery:** Samples spiked 1 to 19 with three intact PTH solutions (900, 3,600 and 7,200 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

**Specificity:** The antibody is highly specific for intact PTH. (See "Specificity" table.)

Antibodies used in the kit were purified by affinity chromatography to achieve specificity for well-defined regions of the

intact PTH molecule. The antibodies immobilized to the solid phase (coated bead) are specific for the C-terminal region (44-84) and have no detectable crossreactivity to the N-terminal region (1-34). Conversely, the enzyme-labeled antibody recognizes only the N-terminal region, and has no detectable crossreactivity to C-terminal or midmolecule regions. Accordingly, the assay, which requires binding by both enzyme-labeled and solid-phase antibodies, is able to recognize only intact PTH and very large PTH fragments that are nearly as long as intact PTH itself. One such fragment, PTH 7-84, exhibits significant crossreactivity (44.8%)<sup>20</sup> in the IMMULITE 2000 PTH assay.

**Bilirubin:** Presence of conjugated and unconjugated bilirubin in concentrations up to 200 mg/L may cause a depression of values. (See "Bilirubin" table.)

**Hemolysis:** Presence of hemoglobin in concentrations up to 513 mg/dL may cause a depression of values. (See "Hemolysis" table.)

**Lipemia:** Presence of triglycerides in concentrations up to 3,000 mg/dL may cause a depression of values. (See "Lipemia" table.)

**Method Comparison 1:** The assay was compared to a chemiluminescent immunometric assay (Kit A) on 79 serum samples. (Concentration range: approximately 3 to 1,300 pg/mL. See graph 1.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 0.90 (\text{Kit A}) - 6.9\ \text{pg/mL}$$

$$r = 0.904$$

Means:

224 pg/mL (IMMULITE 2000)  
255 pg/mL (Kit A)

**Method Comparison 2:** The assay was also compared to a radioimmunometric assay (Kit B) on 99 serum samples. (Concentration range: approximately 3 to 1,300 pg/mL. See graph 2.) By linear regression:

$$(IML\ 2000) = 0.98 (\text{Kit B}) + 5.5\ \text{pg/mL}$$

$$r = 0.889$$

Means:

237 pg/mL (IMMULITE 2000)  
237 pg/mL (Kit B)

## References

1) Armitage EK. Parathyrin (parathyroid

hormone): metabolism and methods for assay. *Clin Chem* 1986;32:418-24. 2) Blind E, Schmidt-Gayk H, Scharla S, Flentje D, Fischer S, Goehring U, Hitzler W. Two-site assay of intact parathyroid hormone in the investigation of primary hyperparathyroidism and other disorders of calcium metabolism compared with a midregion assay. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;67:353-60. 3) Kao PC, Grant CS, Klee GG, Khosla S. Clinical performance of parathyroid hormone immunometric assays. *Mayo Clin Proc* 1992;67:637-45. 4) Measuring the PTH level. *Lancet* 1988 (Jan 16);94-5. 5) Christensen MS. Radioimmunoassay of human parathyroid hormone. *Dan Med Bull* 1979;26:157-73. 6) Hawker CD, Di Bella FP. Radioimmunoassays for intact and carboxyl-terminal parathyroid hormone: clinical interpretation and diagnostic significance. *Ann Clin Lab Sci* 1980;10:76-87. 7) Lepage R, Whittom S, Bertrand S, Bahsali G, D'Amour P. Superiority of dynamic over static reference intervals for intact, midmolecule, and C-terminal parathyrin in evaluating calcemic disorders. *Clin Chem* 1992;38:2129-35. 8) Logue FC, Fraser WD, O'Reilly DStJ, Beastall GH. The circadian rhythm of intact parathyroid hormone (1-84) and nephrogenous cyclic adenosine monophosphate in normal men. *J Endocrinol* 1989;121:R1-R3. 9) Bowers GN, Brassard C, Sena SF. Measurement of ionized calcium in serum with ion-selective electrodes. *Clin Chem* 1986;32:1437-47. 10) Halvorsen JF, Gautvik VT, Gautvik KM. Improved diagnosis of primary hyperparathyroidism by defining the inverse relationship between serum immunoreactive parathyroid hormone and calcium. *Scand J Clin Lab Invest* 1986;46:435-42. 11) Hawker CD, Clark SW, Martin KJ, Slatopolsky E, Di Bella FP. Radioimmunoassay of parathyroid hormone: clinical utility and interpretation. In: Thompson NW, Vinik AI, editors. *Endocrine surgery update*. New York: Grune & Stratton, 1983: 321-40. 12) Boyd JC, Ladenson JH. Value of laboratory tests in the differential diagnosis of hypercalcemia. *Am J Med* 1984;77:863-72. 13) Groth TL, Ljunghall S, De Verdier C-H. Optimal screening for patients with hyperparathyroidism with use of serum calcium observation; a decision-theoretical analysis. *Scand J Clin Lab Invest* 1983;43:699-707. 14) Kleeman K, Kleeman CR. Parathyroid hormone and calcitonin. *Contemp Endocrinol* 1985;2:247-344. 15) Orwoll ES, Meier D. Alterations in calcium, vitamin D, and parathyroid hormone physiology in normal men with aging: relationship to the development of senile osteopenia. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;63:1262-9. 16) Kao PC. Parathyroid hormone assay. *Mayo Clin Proc* 1982;57:596-7. 17) Heath H. Tests of parathyroid function: utility and limitations. *American Association for Clinical Chemistry: Continuing Education in Endocrinology and Metabolism. Endo* (Feb) 1984;2(8):10 pages. 18) Johnson DR, Howarth AT. Differential diagnosis of hypercalcemia. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1984;21:51-97. 19) Audran M, Kumar R. The physiology and

pathophysiology of vitamin D. Mayo Clin Proc 1985;60:851-66. 20) UK National External Quality Assurance Scheme (NEQAS) for PTH, ACTH, and Calcitonin. Distribution 65, 2001.

### Technical Assistance

In the United States, contact DPC's Technical Services department.  
Tel: 800.372.1782 or 973.927.2828  
Fax: 973.927.4101. Outside the United States, contact your National Distributor.

The Quality System of Diagnostic Products Corporation is registered to ISO 13485:2003.

## Tables and Graphs

### Intraassay Precision (pg/mL)

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	72	4.1	5.7%
2	258	11	4.3%
3	662	28	4.2%

### Interassay Precision (pg/mL)

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	54	3.4	6.3%
2	387	34	8.8%

### Linearity (pg/mL)

	Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	8 in 8 <sup>5</sup>	158	—	—
	4 in 8	82	79	104%
	2 in 8	42	40	105%
	1 in 8	22	20	110%
2	8 in 8	253	—	—
	4 in 8	132	127	104%
	2 in 8	67	63	106%
	1 in 8	33	32	103%
3	8 in 8	533	—	—
	4 in 8	274	267	103%
	2 in 8	141	133	106%
	1 in 8	71	67	106%

### Recovery (pg/mL)

	Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>5</sup>
1	—	29	—	—
	A	66	73	90%
	B	202	208	97%
	C	400	388	103%
2	—	154	—	—
	A	177	191	93%
	B	309	326	95%
	C	522	506	103%
3	—	598	—	—
	A	618	613	101%
	B	734	748	98%
	C	974	928	105%

### Specificity

Compound <sup>1</sup>	pg/mL Added <sup>2</sup>	% Cross reactivity <sup>3</sup>
PTH (1-34)	300	ND
PTH (1-44)	100,000	ND
PTH (44-68)	100,000	ND
PTH (53-84)	100,000	ND
Calcitonin	10,000	ND

ND: Not detectable.<sup>4</sup>

### Bilirubin

	Unspiked <sup>3</sup>	Conjugated <sup>1</sup>		Unconjugated <sup>2</sup>	
		100 mg/L	200 mg/L	100 mg/L	200 mg/L
1	30	19	18	20	20
2	442	307	331	317	315
3	907	753	690	689	652
4	1,556	1,108	1,182	1,183	1,137
5	2,234	1,832	1,663	1,736	1,641

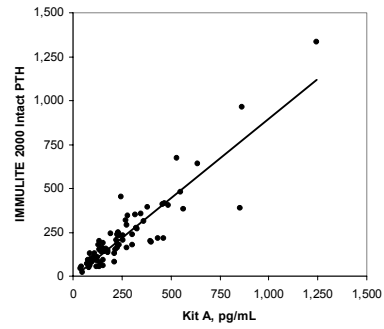
## Hemolysis

	Unspiked <sup>1</sup>	Hemoglobin		
		171 mg/dL	342 mg/dL	513 mg/dL
1	30	27	25	27
2	484	446	421	441
3	971	941	895	917
4	1,575	1,460	1,425	1,396
5	2,234	2,002	1,937	1,963

## Lipemia

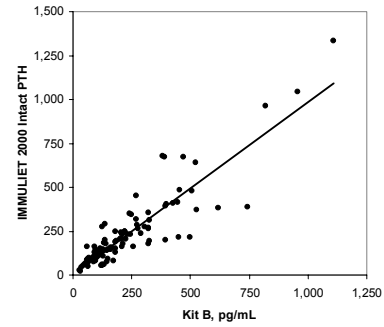
	Triglycerides Added <sup>1</sup> mg/dL	Observed <sup>2</sup> mg/dL	Expected <sup>3</sup> mg/dL	%O/E <sup>4</sup>
	500	31	30	103%
	1,000	31	29	107%
	2,000	30	27	111%
	3,000	23	26	88%
2	—	484	—	—
	500	449	472	95%
	1,000	465	460	101%
	2,000	395	436	91%
	3,000	216	411	53%
3	—	971	—	—
	500	943	947	100%
	1,000	926	923	100%
	2,000	817	874	93%
	3,000	479	825	58%
4	—	1,575	—	—
	500	1,463	1,536	95%
	1,000	1,515	1,496	101%
	2,000	1,224	1,418	86%
	3,000	636	1,339	47%
5	—	2,234	—	—
	500	2,202	2,178	101%
	1,000	2,145	2,122	101%
	2,000	2,074	2,011	103%
	3,000	1,393	1,899	73%

## Method Comparison 1



(IML 2000) = 0.90 (Kit A) – 6.9 pg/mL  
r = 0.904

## Method Comparison 2



(IML 2000) = 0.98 (Kit B) + 5.5 pg/mL  
r = 0.889

**Deutsch. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>SD (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>SD (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** <sup>1</sup>Verdünnung, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E, <sup>5</sup>8 in 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Lösung, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Verbindung, <sup>2</sup>zugesetzte Menge, <sup>3</sup>% Kreuzreaktivität, <sup>4</sup>NN Nicht nachweisbar. **Bilirubin:** <sup>1</sup>Konjugiertes, <sup>2</sup>Unkonjugiertes <sup>3</sup>Ohne Zugabe von. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Ohne Zugabe von. **Lipemia:** <sup>1</sup>Triglyceride Menge, <sup>2</sup>Beobachten (B), <sup>3</sup>Erwarten (E), <sup>4</sup>% B/E. **Method Comparison.** Intact-PTH: PTH-intakt

**Español. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 en 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Compuesto, <sup>2</sup>Cantidad añadida, <sup>3</sup>% Reacción cruzada, <sup>4</sup>ND: no

detectable. **Bilirubin:** <sup>1</sup>Conjugada, <sup>2</sup>Libre, <sup>3</sup>Sin añadir. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Sin añadir. **Lipemia:** <sup>1</sup>Triglicéridos añadida, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Method Comparison.** Intact-PTH: PTH intacta

**Français. Intraassay precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Interassay precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 dans 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composé, <sup>2</sup>ajouté, <sup>3</sup>Réaction croisée %. <sup>4</sup>ND: non détectable. **Bilirubin:** <sup>1</sup>Conjuguée, <sup>2</sup>Non conjuguée <sup>3</sup>Non chargés. **Hemolysis:** <sup>1</sup> Non chargés. **Lipemia:** <sup>1</sup>Triglycérides ajouté, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A. **Method Comparison.** Intact-PTH: PTH intacte

**Italiano. intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** <sup>1</sup>Diluizione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 in 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Soluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>quantità aggiunta, <sup>3</sup>Percentuale di Crossreattività, <sup>4</sup>ND: non determinabile. **Bilirubin:** <sup>1</sup>Coniugata, <sup>2</sup>Non coniugata <sup>3</sup>Semplice. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Semplice. **Lipemia:** <sup>1</sup>Trigliceridi aggiunta, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A. **Method Comparison.** Intact-PTH: PTH Intatto

**Português. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Linearity:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 em 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>Quantidade adicionada, <sup>3</sup>Percentagem de reacção cruzada, <sup>4</sup>ND: não detectável. **Bilirubin:** <sup>1</sup>Conjugada, <sup>2</sup>Não conjugada <sup>3</sup>Não adicionada. **Hemolysis:** <sup>1</sup>Não adicionada. **Lipemia:** <sup>1</sup>Trigliceridos adicionada, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Method Comparison.** Intact-PTH: PTH intacta

---

## Deutsch

---

### IMMULITE 2000 PTH Intakt

**Anwendung:** Für in-vitro-diagnostische Tests mit dem Analysegerät IMMULITE 2000 – zur quantitativen Messung von intaktem Parathormon in EDTA-Plasma und Serum, als Hilfe bei der Differentialdiagnose der Hyper- und Hypokalzämie.

Artikelnummern: **L2KPP2** (200 Tests), **L2KPP6** (600 Tests)

Testcode: **iPT** Farbe: **dunkelgrün**

### Klinische Relevanz

Parathormon (Parathyrin, PTH), ein einkettiges aus 84 Aminosäuren zusammengesetztes Polypeptid, spielt eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung einer optimalen Konzentration an Ca<sup>2+</sup>-Ionen. PTH erhöht die Serumspiegel an ionisiertem Calcium durch direkte Wirkung am Knochen und an den Nieren. Am Knochen bewirkt es eine Freisetzung von Calciumionen aus dem Knochen in die Extrazellulärflüssigkeit. In den Nieren erhöht es sowohl die tubuläre Reabsorption von ionisiertem Calcium, als auch die renale Ausscheidung von Phosphat. Die Langzeitregulation des Gesamtkörper-Calciums durch das PTH erfolgt über eine Stimulation des Vitamin D-Stoffwechsels. Dadurch kommt es zu einer erhöhten intestinalen Absorption von ionisiertem Calcium.<sup>1</sup>

Bei Gesunden ist die PTH-Sekretion abhängig vom Spiegel des ionisierten Calciums. Jedes Absinken unter den individuellen Grenzwert, bewirkt eine erhöhte Ausschüttung von Parathormon. Über einen negativen Feedback-Mechanismus bewirken die Calcium-Spiegel nach Wiederanstieg in den individuellen Normalbereich eine Inhibierung der PTH-Sekretion aus den Nebenschilddrüsen.<sup>1</sup>

Das intakte Parathormon wird in einem geringen Ausmaß bereits in den Nebenschilddrüsen, in einem größeren Ausmaß in der Peripherie proteolytisch abgebaut. Vorwiegend in der Leber, aber auch in den Nieren und im Knochen werden N-terminale Fragmente, aber auch langlebigere C-terminale und midregionale Fragmente gebildet. Das N-terminale Fragment enthält den bioaktiven Teil des Moleküls. C-terminale und N-terminale Fragmente werden primär in äquimolaren Mengen gebildet, jedoch verschwindet das N-terminale Fragment sehr schnell aus der Zirkulation. Das C-terminale Fragment hat eine biologische Halbwertszeit von mehreren Stunden. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz ist die Clearance des C-terminalen Fragments durch glomeruläre Filtration eingeschränkt, so das hohe Serumspiegel dieses Fragments gefunden werden. C-

terminale Assays (ebenso midregionale Assays) geben so bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine unzuverlässige Aussage, da erhöhte PTH-Spiegel hier die eingeschränkte renale Clearance widerspiegeln.<sup>1,2</sup>

Für das intakte Parathormon beträgt die Halbwertszeit in vivo 2 bis 5 Minuten.<sup>3</sup> Die Clearance des intakten Moleküls ist sowohl von der peritubulären Aufnahme, als auch von der glomerulären Filtration, gefolgt durch eine Reabsorption, abhängig. Bei einer normalen Nierenfunktion repräsentiert das intakte Parathormon den Hauptteil des biologisch aktiven Parathormons.<sup>4</sup> Die Konzentration in der Zirkulation beträgt 10-11 bis 10-12 mol/l.<sup>2</sup>

Bei hyperkalzämischen Zuständen, wie primärem Hyperparathyreoidismus oder ektopischer PTH-Produktion (Pseudohyperparathyreoidismus) weist die Mehrzahl der Patienten erhöhte PTH-Spiegel auf. Im Gegensatz dazu weisen Patienten mit Tumorhyperkalzämie oder Hyperkalzämie anderer Genese typischerweise erniedrigte PTH-Spiegel, oder Spiegel innerhalb des Referenzbereiches gesunder Probanden auf. Bei Patienten mit sekundärem Hyperparathyreoidismus, gewöhnlich verbunden mit einer Niereninsuffizienz, sind die PTH-Spiegel charakteristischerweise erhöht. Dies ist das Resultat einer konstanten Stimulation der Nebenschilddrüsen, hervorgerufen durch niedrige Calcium-Spiegel. Eine Hypokalzämie, verbunden mit niedrigen PTH-Spiegeln findet man bei Patienten mit Hypoparathyreoidismus nach chirurgischen Eingriffen oder idiopathisch.<sup>2,5,6</sup>

Verschiedene Immunoassays zur spezifischen Bestimmung verschiedener PTH-Fragmente wurden in der Vergangenheit entwickelt. Sie verwenden meist Antiseren, die gegen eine diskrete Region des PTH-Moleküls spezifisch sind: die C-terminale Region, die N-terminale Region oder die Midregionale Region. Die in solchen Assays verwendeten Antiseren binden neben der spezifischen Region auch ähnliche Fragmente.<sup>1,4</sup>

Neuere Assays zur Bestimmung des intakten PTH besitzen eine Sensitivität die es ermöglicht, zirkulierendes intaktes PTH

bei Gesunden nachzuweisen und zwischen gesunden Probanden und Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus zu unterscheiden. Ebenso ermöglichen diese Testsysteme im Vergleich zu früheren Methoden eine bessere Diskriminierung zwischen Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus und mit Tumorhyperkalzämie.<sup>4</sup>

Eine deutliche Erhöhung der klinischen Sensitivität kann man erreichen, wenn für die PTH-Assays dynamische Referenzbereiche (basierend auf PTH-Messungen bei akuter Modifikation des Serum-Calciums bei gesunden Probanden) benutzt werden, anstelle von Gauss-verteilten Referenzbereichen (basierend auf PTH-Spiegeln bei normokalzämischen Probanden). Für die Differentialdiagnose zwischen primärem Hyperparathyreoidismus und Hypoparathyreoidismus erhielten Lepage et al. bei Verwendung eines dynamischen Referenzbereiches für einen IRMA eine klinische Sensitivität von bis zu 100%. Nur der Einsatz von Assays zur Bestimmung des intakten PTH ermöglicht eine exakte Differentialdiagnose zwischen primärem Hyperparathyreoidismus und hyperkalzämischen Zuständen nicht parathyreoidaler Genese.<sup>7</sup>

## Methodik

Der IMMULITE 2000 PTH Intakt ist ein Festphasen-, sequenzieller Zweischritt-Chemilumineszenz-, Immunometrischer Assay.

**Inkubationszyklen:** 1 × 60 Minuten.

## Probengewinnung

Wegen möglicher tageszeitlicher Schwankungen empfiehlt es sich, Blutproben nach nächtlichem Fasten um 7.00 Uhr morgens abzunehmen. (Eine Studie von Logue, et al. zeigt, daß eine Probeentnahme nach 10 Uhr die Unterscheidung zwischen gesunden Probanden und Patienten mit einer milden primären Hyperparathyreose optimieren kann.)

Die Blutabnahme sollte durch Venenpunktion in Plastik-EDTA-Röhrchen oder in unbehandelte Serumröhrchen (mit oder ohne Trenngel) unter Vermeidung von Hämolyse erfolgen. Die Abtrennung

der Zellen von Plasma und Serum sollte sobald als möglich erfolgen.

**EDTA-Plasma** während der Probengewinnung und bis zur Abtrennung der Zellen gekühlt (2–8°C) lagern. Die Trennung von Plasma u. Zellen sollte - wenn möglich - in einer Kühlzentrifuge erfolgen. Bitte beachten Sie, dass EDTA-Röhrchen vollständig gefüllt sein müssen. Unvollständiges Füllen führt zu einem Anstieg der EDTA-Konzentration, was zu Interferenzen im Assay führen und somit zu falsch erniedrigten Werten führen kann.

**Serumproben** bei Raumtemperatur vollständig gerinnen lassen. Abtrennen des Serums von den Zellen -wenn möglich- mittels einer Kühlzentrifuge.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analyseergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Lipämische, hämolytische, ikterische oder grob kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Blutabnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von verwendeten Materialien und Additiven, Gel oder physikalische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und/oder Antikoagulantien ab. IMMULITE 2000 PTH intakt wurden mit BD Vacutainer™ Röhrchen (unbehandelte Serumröhrchen, SST u. EDTA) getestet. Es wurden nicht alle möglichen Variationen von Röhrchentypen getestet.

**Erforderliche Menge:** 50 µl Serum oder Plasma.

**Lagerung:** Nach der Abnahme können die Proben bei 2 – 8°C bis zu 8 Stunden gelagert werden. Für eine längere Lagerung, Proben aliquotieren und einfrieren, bei –20°C für bis zu 2 Monate haltbar.

## Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur *In-vitro*-Diagnostik.

**Reagenzien:** Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu verhindern, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

**Chemilumineszenz-Substratmodul:** Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. (Siehe Packungsbeilage)

**Wasser:** Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

## Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile sind aufeinander abgestimmt. Die Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

### PTH-intakt Kugel-Container (L2PP12)

Der barcodierte Kugel-Container enthält 200 Kugeln, beschichtet mit affinitätsgereinigtem, monoklonalem PTH-Antikörper (44–84) maus. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

**L2KPP2:** 1 Container **L2KPP6:** 3 Container

### PTH-intakt - Reagenzbehälter (L2PPA2)

Der barcodierte Reagenz-Container enthält 11,5 ml alkalische Phosphatase (Kalb) konjugiert mit affinitätsgereinigtem, polyklonalem PTH-Antikörper (Ziege) (1-34) in einem Puffer (mit Konservierungsmittel). Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.

**L2KPP2:** 1 Behälter **L2KPP6:** 3 Behälter

Vor Gebrauch den Aufkleber an der Perforation abreißen, ohne dabei die Barcodierung zu beschädigen. Die Folie von der Oberseite des Containers entfernen. Den Schiebedeckel nach unten in die Führung des Reagenziendeckels einrasten lassen.

**PTH-intakt -Kalibratoren (LPHL, LPHH)**

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem, synthetischem, humanem-intaktem PTH in einer gepufferten Matrix. Jedes Röhrchen mit **2,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen, danach Kalibratoren sofort auf Eis stellen. Durch leichte Drehbewegungen mischen. *Nur frisch rekonstituierte* Kalibratoren für den Test verwenden. *Nicht einfrieren*  
**L2KPP2:** 3 Sets. **L2KPP6:** 5 Sets.

Vor der Kalibrierung die entsprechenden Aufkleber (dem Kit beiliegend) auf Röhrchen kleben, so daß die Barcodes vom Barcodereader des Systems gelesen werden können.

**Separat erhältliche Testsystem-Komponenten**

**PTH-intakt –Verdünnungspuffer (L2PHZ)**

Zur on-board Verdünnung von Proben hoher Konzentration. 25 ml konzentriertes (gebrauchsfertig) PTH-freie Puffermatrix . Nach Öffnen 30 Tage bei 2-8°C haltbar oder 6 Monate bei -20°C (aliquotiert).

Zum Einsatz des Verdünnungsreagenz (Diluents) werden Barcode Etiketten mitgeliefert. Vor Verwendung ein entsprechendes Etikett auf ein 16 x 100 mm Teströhrchen kleben, so dass es vom eingebauten Barcode Reader gelesen werden kann.

**L2PHZ:** 3 Etiketten

**L2SUBM:** Chemilumineszenz-Substratmodul

**L2PWSM:** Waschmodul

**L2KPM:** Reinigungsmodul

**LRXT:** (Einmal-) Reaktionsgefäße

**L2ZT:** 250 Teströhrchen (16 x 100 mm) für die Probenverdünnung

**L2ZC:** 250 Röhrchenverschlüsse für die Probenverdünnung

**LPHCM:** PTH-intakt-Kontrolle. Bi-Level in einer Puffermatrix.

Ebenfalls benötigt:  
 Destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;  
 Röhrchen; Kontrollen.

**Testdurchführung**

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE 2000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Die Angaben zur Vorbereitung, Einrichtung, Verdünnung, Kalibration, Test- und Qualitätskontrollverfahren entnehmen Sie bitte dem IMMULITE 2000-Handbuch.

**Empfohlenes Kalibrationsintervall:**  
 4 Wochen.

**Proben zur Qualitätskontrolle:**  
 Kontrollen oder Seren mit PTH-intakt in zumindest zwei Konzentrationen (niedrige und hohe) verwenden.

**Referenzwerte**

Eine Referenzwertstudie mit parallel abgenommenen EDTA-Plasma- und Serumproben von 88 angenommen gesunden Personen wurde durchgeführt. Die Proben wurden in BD Plastik Vacutainer™ Röhrchen abgenommen. Die parallel abgenommenen Proben wurden mit den IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH intakt und IMMULITE PTH 2000 intakt-Assays analysiert. Die Analyse der Daten zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Plattformen, wobei sich ein klarer Unterschied in den Referenzbereichen zwischen EDTA-Plasma und Serum ergab. Die aus dieser Studie abgeleiteten Referenzbereiche für IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH intakt und IMMULITE 2000 PTH intakt für EDTA-Plasma und Serum sind in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

	Median	Zentralen 95% Bereich (pg/ml)
EDTA-Plasma	38	16 – 87
Serum	30	11 – 67

Der Referenzbereich für Serum ist in guter Übereinstimmung mit einer früheren Multi-Center-Studie , welche mit IMMULITE 2000 PTH intakt und 255 Serumproben von angenommen gesunden Personen

durchgeführt wurde. Der ermittelte Median für diese Population beträgt 32 pg/ml. Der aus dieser Studie ermittelte Referenzbereich beträgt:

12 – 65 pg/ml (1,3 – 6,8 pmol/l).

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

### Grenzen der Methode

Der Test ist für die Differentialdiagnose von Hyperkalzämie und Hypokalzämie vorgesehen und *nicht* für die Diagnose oder Therapiekontrolle maligner Erkrankungen.

Aufgrund des physiologischen Zusammenhangs zwischen zirkulierendem Kalzium und PTH ist es immer wichtig, daß die PTH-Ergebnisse im Hinblick auf die gesamten oder ionisierten Kalziummengen interpretiert werden.<sup>9,10</sup> Wenn persistierende Kalziumwerte grenzwertig hoch zusammen mit grenzwertig hohen PTH-Werten gefunden werden (Alternativ: grenzwertig-niedriges Kalzium zusammen mit grenzwertig-niedrigem PTH) ist eine weitere Untersuchung angezeigt. Obwohl das PTH im Normbereich liegt, kann es immer noch zu relativ hoch oder relativ niedrig zur zirkulierenden Kalziummenge sein.<sup>11</sup>

Kennzeichen der Nierenfunktion, z.B. Kreatinin-, Albuminmessungen, in Ergänzung zur Messung des Gesamtkalziums,<sup>12-15</sup> und Phosphat,<sup>14,16</sup> Chlorid,<sup>12</sup> nephrologisches AMP<sup>14,17,18</sup> und möglicherweise Calcitonin<sup>14</sup>-Bestimmungen unterstützen die Interpretation der Kalzium- und PTH-Werte. Es sollte beachtet werden, daß Hyperkalzämie und Hypokalzämie sekundär zu gestörtem Vitamin D Metabolismus führen können.<sup>19</sup>

Lipämische, hämolytische, ikterische oder stark kontaminierte Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des *in vitro* Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierenserumprodukten zu tun haben, können

die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

### Leistungsdaten

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als pg/ml ausgedrückt.

Alle Leistungsdaten, außer Präzision und Methodenvergleich 1, wurden mit dem IMMULITE 2000 System bestimmt.

#### Umrechnungsfaktor:

pg/ml × 0,1053 → pmol/l

**Messbereich:** Bis 2 500 pg/ml (263 pmol/l).

**Analytische Sensitivität:** 3,0 pg/ml (0,3 pmol/l).

**High-Dose-Hook Effekt:** Keiner bis zu 500 000 pg/ml (50 000 pmol/l).

#### Präzision im einzelnen Testansatz

**(intraassay):** Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle „Intraassay-Präzision“).

#### Präzision zwischen Testansätzen

**(interassay):** Statistik aus 10 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle „Interassay-Präzision“).

**Linearität:** Proben wurden getestet, und zwar nachdem sie verschiedenerweise verdünnt wurden. (Siehe Tabelle „Linearity“)

**Wiederfindung:** Proben wurden mit drei PTH-Intakt Lösungen (900, 3 600 und 7 200 pg/ml) im Verhältnis von 1:19 versetzt. (Siehe Tabelle „Recovery“)

**Spezifität:** Antikörper gegen definierte Epitope des PTH-Intakt Molekül zu erhalten. (Siehe Tabelle „Specificity“)

Der Antikörper an der Festphase ist gegen die c-terminale Region (44-84) gerichtet und hat keine Kreuzreaktivität zum N-Terminus (1-34). Der enzymmarkierte Antikörper ist hochspezifisch für den N-

Terminus, ohne nachweisbare Kreuzreaktivität zur c-terminalen Region oder mittregionale Bereiche des Moleküls. Dementsprechend erkennt der Test nur intaktes PTH, da die Bindung des Antikörpers an der Festphase und des enzymmarkierten Antikörpers notwendig ist, um das Molekül nachzuweisen. Neben dem intakten PTH erkennen die Antikörper nur sehr große PTH-Fragmente. Eines dieser Fragmente, das PTH 7–84, zeigt im IMMULITE 2000 PTH Assay eine signifikante Kreuzreaktivität (44,8%).<sup>20</sup>

**Bilirubin:** Konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin in Konzentrationen bis zu 200 mg/l kann zu einer Erniedrigung der Werte führen (Siehe Tabelle "Bilirubin")

**Hämolyse:** Hemoglobin in Konzentrationen bis zu 513 mg/dl kann zu einer Erniedrigung der Werte führen (Siehe Tabelle "Hemolysis").

**Lipämie:** Triglyceride in Konzentrationen bis zu 3 000 mg/dl können zu einer Erniedrigung der Werte führen (Siehe Tabelle "Lipemia").

**Methodenvergleich 1:** Der Assay wurde unter Verwendung von 79 Serumproben mit einem weiteren immunometrischen Chemilumineszenz assay (Kit A) verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 3 – 1 300 pg/ml. Siehe Grafik 1.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,90 (Kit A) – 6,9 pg/ml  
r = 0,904

Mittelwert:  
224 pg/ml (IMMULITE 2000)  
255 pg/ml (Kit A)

**Methodenvergleich 2:** Der Assay wurde unter Verwendung von 99 Serumproben mit einem Radioimmunoassay assay (Kit B) verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 3 – 1 300 pg/ml. Siehe Grafik 2.) Durch lineare Regression:

(IML 2000) = 0,98 (Kit B) + 5,5 pg/ml  
r = 0,889

Mittelwert:  
237 pg/ml (IMMULITE 2000)  
237 pg/ml (Kit B)

## Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Das Qualitätssystem der Diagnostic Products Corporation ist nach ISO 13485:2003 registriert.

---

## Español

---

### IMMULITE 2000 PTH intacta

**Utilidad del análisis:** Para el diagnóstico *in vitro* con el Analizador IMMULITE 2000 — para la medición cuantitativa de la hormona Paratiroidea (PTH intacta) en plasma con EDTA y suero, como una ayuda en el diagnóstico diferencial de la hipercalcemia y la hipocalcemia.

Números de Catálogo:

**L2KPP2** (200 tests), **L2KPP6** (600 tests)

Código del Test: **iPT** Color: **Verde oscuro**

### Resumen y Explicación del Test

La Hormona Paratiroidea (Paratohormona, PTH), consiste en una única cadena polipeptídica de 84 aminoácidos, que posee una influencia significativa en el mantenimiento de la concentración del ion calcio en el organismo. La hormona PTH incrementa los niveles calcio en suero, actuando directamente sobre el hueso y los riñones: el incremento de calcio viene dado por el flujo de calcio desde el hueso hacia el fluido extracelular y de la reabsorción en el tubulo renal de ión calcio junto con la excreción de fosfato por parte del mismo. La regulación a largo plazo de los niveles totales de calcio del organismo está mediada por la estimulación del metabolismo de la vitamina D, la cual provoca la absorción intestinal de ión calcio.<sup>1</sup>

En individuos sanos, la hormona PTH es secretada en respuesta a los niveles circulantes de ión calcio. Cualquier descenso por debajo los niveles normales desencadena un incremento en la secreción de PTH. Los niveles de Calcio vuelven a la normalidad ejerciendo un efecto feedback negativo, que inhibe a su vez la secreción de PTH por las glándulas paratiroideas.<sup>1</sup>

En menor medida PTH experimenta proteólisis en las glándulas paratiroideas, pero mayoritariamente es metabolizada en el sistema periférico, especialmente en hígado, riñón y hueso, dando lugar a fragmentos N-terminal, C-terminal y fragmentos intermedios de elevada vida

IMMULITE 2000 Intact PTH (PIL2KPP-15, 2005-12-30)

media. Los fragmentos de la región N-terminal confieren a la molécula la bioactividad. Los fragmentos C-terminal N-terminal son generados inicialmente en igual proporción, pero el N-terminal se degrada rápidamente. El fragmento C-terminal tiene una vida media de varias horas. En caso de insuficiencia renal, el aclaramiento por filtración glomerular del fragmento C-terminal está disminuido, encontrándose elevados niveles del mismo. Los ensayos que detectan el fragmento C-terminal (así como los fragmentos intermedios) no son fiables, especialmente en los casos de insuficiencia renal crónica, donde el incremento de PTH es un reflejo del fallo de su aclaramiento renal.<sup>1,2</sup>

Para la hormona intacta, la vida media es de 2 a 5 minutos.<sup>3</sup> El aclaramiento de la PTH intacta es realizado en la zona peritubular y por filtración glomerular seguido de reabsorción. En condiciones de normalidad de la función renal, la PTH intacta es la mayor parte de la PTH bioactiva circulante y está presente en concentraciones de 10<sup>-11</sup> a 10<sup>-12</sup> mol/l.<sup>2</sup>

En condiciones de hipercalcemia debida a hiperparatiroidismo primario o producción ectópica de PTH (pseudoparatiroidismo), la mayoría de los pacientes tienen elevados los niveles de PTH. Por el contrario, los casos de hipercalcemia debida a procesos tumorales u otras causas, la concentración de PTH circulante se encuentra disminuida o dentro de los límites normales del rango de referencia. Los niveles de PTH también son típicamente altos en hiperparatiroidismo secundario (normalmente asociado a fallo renal) como resultado de la constante estimulación de la glándula paratiroidea por los bajos niveles de calcio. La hipocalcemia unida a bajos niveles de PTH, es por otro lado, un hipoparatiroidismo de causas postquirúrgicas o idiopáticas.<sup>2,5,6</sup>

Los inmunoensayos específicos para varios fragmentos de la molécula de PTH, habían sido desarrollados hasta hace poco, a partir de anticuerpos específicos contra diferentes regiones: C-terminal, N-terminal, o fragmentos intermedios de la molécula. Los anticuerpos empleados en tales casos, no solo reconocían la región

específica, sino también fragmentos similares.<sup>1,4</sup>

Los actuales ensayos para PTH intacta poseen la sensibilidad necesaria para detectar la PTH intacta circulante y discriminar entre individuos normales y pacientes con hiperparatiroidismo primario. Estos ensayos parecen discriminar mejor que los anteriores entre hiperparatiroidismo primario e hipercalcemia debida a procesos tumorales, sin presentar ningún solapamiento significativo entre estos grupos.<sup>4</sup>

La mayor parte de las mejoras en la sensibilidad clínica para los ensayos de PTH, han venido dadas usando intervalos de referencia dinámicos (basados en rangos de valores para PTH en suero, obtenidos a partir de modificaciones extremas en las concentraciones de calcio de individuos sanos), mejor que un rango de referencia gaussiano (basado en valores de PTH en individuos con valores de calcio normales). Utilizando un ensayo inmunoradiométrico para PTH intacta y aplicando un rango de referencia dinámico, Lepage, et al. obtuvieron una sensibilidad clínica media cercana al 100 % usando muestras con hiper e hipoparatiroidismo primario. Moreover, utilizando el ensayo de PTH intacta encontró una separación completa entre hiperparatiroidismo primario y pacientes con hipercalcemia sin patología paratiroidea.<sup>7</sup>

### Principio del análisis

IMMULITE 2000 PTH intacta es un ensayo secuencial inmunométrico quimioluminiscente en fase sólida.

**Ciclos de incubación:** 1 × 60 minutos.

### Recogida de la muestra

Debido a la elevación nocturna de los niveles de PTH intacta, las muestras deberán recogerse a la mañana, después de las 7 a.m., preferentemente después de que el paciente ayune durante la noche. (Un estudio realizado por Logue, et al. sugiere que tomar muestras después de las 10 a.m. puede optimizar la discriminación entre los individuos normales y los pacientes con hiperparatiroidismo primario leve<sup>8</sup>).

Recoger la sangre por venipunción en tubos plásticos para plasma y EDTA o en tubos plásticos para suero (con o sin barrera de gel), evitando la hemólisis. Tanto el plasma como el suero se deberán separar de las células lo más pronto posible.

**Para muestras de plasma EDTA,** mantener las muestras en frío (2–8°C) durante todo el proceso de recogida y separación. Separar el plasma de las células utilizando si es posible una centrifuga refrigerada. Observe que los tubos de muestra con EDTA deben rellenarse hasta su capacidad total. Si no se llenan completamente puede haber un exceso de concentración de EDTA, que puede interferir con el ensayo causando unos valores falsos a la baja.

**Para muestras de suero,** permitir la completa formación del coagulo a temperatura ambiente. Separar el suero de las células, utilizando si es posible una centrifuga refrigerada.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coagulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coagulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Las muestras lipémicas, hemolizadas, ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

Se recomienda el uso de una ultracentrifuga para aclarar las muestras lipémicas.

La recolección de sangre en tubos de diferentes fabricantes puede producir valores distintos, dependiendo de los materiales y los aditivos, los cuales incluyen barreras físicas o de gel, activadores de la coagulación y anticoagulantes. El ensayo IMMULITE 2000 PTH Intacta ha sido analizado con tubos plásticos Vacutainer™ BD (suero sólo, SST y EDTA). No ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos posibles.

**Volumen Requerido:** 50 µl de suero o plasma.

**Conservación:** Las muestras se pueden almacenar a 2–8°C durante las siguientes 8 horas después de su toma. Para un almacenamiento más prolongado, alicortar y congelar hasta dos meses a –20°C.

## Advertencias y Precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

**Reactivos:** Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sodica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitucion de residuos de azidas metalicas, potencialmente explosivas, en las canerías de cobre y plomo.

**Sustrato quimioluminiscente:** evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

**Agua:** Usar agua destilada o desionizada.

## Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

### Cartucho de bolas de PTH intacta (L2PP12)

Con códigos de barras. 200 bolas, recubiertas con anticuerpos monoclonales murinos anti-PTH (44–84) purificados por afinidad. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

**L2KPP2:** 1 cartucho.  
**L2KPP6:** 3 cartuchos.

### Vial de reactivo de PTH intacta (L2PPA2)

Con códigos de barras. 11,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada a anticuerpos policlonales de cabra anti-PTH purificados por afinidad (1-34) en solución tampón, con conservante. Estable a

2–8°C hasta la fecha de caducidad.  
**L2KPP2:** 1 vial. **L2KPP6:** 3 viales.

Antes de usar, cortar la parte superior de la etiqueta en la perforación, sin dañar el código de barras. Quitar el precinto del orificio del vial; encajar la cubierta deslizante en las rampas de la tapa del reactivo.

#### **Ajustadores de PTH intacta (LPHL, LPHH)**

Dos viales (bajo y alto) de PTH intacta humana sintética en una matriz en solución tampón, liofilizada. Reconstituir cada vial con **2,0 ml** de agua destilada o desionizada, luego colocar el ajustador inmediatamente en hielo. Mezclar suavemente con movimientos giratorios intermitentes. Para cada ensayo, *sólo* usar ajustadores *recientemente reconstituidos. No congelar.*

**L2KPP2:** 3 juegos. **L2KPP6:** 5 juegos.

Antes de hacer un ajuste, colocar las etiquetas a las alícuotas apropiadas (suministradas con el kit) sobre tubos de ensayo, de forma tal que los códigos de barras puedan ser leídos por el lector.

#### **Componentes del kit que se suministran por separado**

##### **Diluyente de muestras de PTH (L2PHZ)**

Para la dilución de muestras de alta concentración dentro del equipo. 25 ml de un concentrado listo para usarse, compuesto de una matriz en solución tampón libre de PTH. Conservación: 30 días (después de su apertura) a 2–8°C o 6 meses (alícuotado) a –20°C.

Se suministran etiquetas con códigos de barras para usarse con este diluyente. Antes de uso, colocar la etiqueta con el código de barras en un tubo de ensayo de 16 × 100 mm, así los códigos de barras pueden ser identificados por el lector del instrumento.

**L2PHZ:** 3 etiquetas

**L2SUBM:** Substrato quimioluminiscente

**L2PWSM:** Lavado de sonda

**L2KPM:** Kit de limpieza de sonda

**LRXT:** Tubos de reacción (desechables)

**L2ZT:** 250 Tubos De Prueba Del

Diluyente De la Muestra (16 × 100 mm)

**L2ZC:** 250 Casquillos Del Tubo Del

Diluyente De la Muestra

**LPHCM:** Controles PTH Intacta de dos niveles en una matriz en solución tampón.

También necesarios

Agua destilada o desionizada; tubos de ensayo; controles.

#### **Ensayo**

Nótese que para una óptima ejecución, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento rutinario definidos en el manual del operador IMMULITE 2000.

Ver el Manual del Operador IMMULITE 2000 para : preparación, inicialización, diluciones, ajuste, ensayo y procedimientos de control de calidad.

#### **Intervalo de ajuste recomendado:**

4 semanas.

**Muestras de Control de Calidad:** Utilizar controles o pools de sueros con al menos dos niveles diferentes de PTH intacta (bajo y alto).

#### **Valores Esperados**

Se realizó un estudio del intervalo de referencia en muestras coincidentes de plasma con EDTA y de suero de 88 voluntarios aparentemente sanos, las cuales se recogieron en tubos plásticos Vacutainer™ BD. Las muestras coincidentes se analizaron en ensayos IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH Intacta e IMMULITE 2000 PTH Intacta. El análisis de los datos indicó que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las plataformas, si bien hubo una diferencia clara entre los intervalos de referencia del plasma con EDTA y del suero. Los intervalos de referencia sugeridos por este estudio para el IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH Intacta y el IMMULITE 2000 PTH Intacta para el plasma con EDTA y el suero se muestran en la tabla siguiente.

	Mediana	Central 95% Intervalo (pg/mL)
Plasma con EDTA	38	16 – 87
Suero	30	11 – 67

El intervalo de referencia para el suero coincide con un estudio sobre el intervalo de referencia realizado anteriormente en varios hospitales con el ensayo

IMMULITE 2000 PTH Intacta en 255 muestras de suero de individuos aparentemente sanos. Esta población produjo una mediana de 32 pg/ml. El intervalo de referencia sugerido por este estudio es:

12 – 65 pg/ml (1,3 – 6,8 pmol/l).

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada Laboratorio deberá establecer sus propios rangos de referencia.

### Limitaciones

El propósito del ensayo es estrictamente para ayudar en el diagnóstico diferencial de la hipercalcemia y la hipocalcemia, *no* para el diagnóstico o control de la malignidad.

Debido a la relación fisiológica entre el calcio circulante y la PTH, es importante que los resultados de PTH siempre se interpreten a la luz de los niveles totales o ionizados de calcio.<sup>9,10</sup> El hallazgo de un nivel de calcio persistentemente alto-normal acompañado por un nivel de PTH alto-normal (alternativamente, un nivel de calcio bajo-normal acompañado por un nivel de PTH bajo-normal), garantiza una investigación posterior; ya que si bien la PTH puede estar dentro de los límites normales, todavía puede ser inapropiadamente alta (o inapropiadamente baja) en relación al nivel de calcio circulante.<sup>11</sup>

Los índices de la función renal, por ejemplo los niveles de creatinina; la medición de albúmina, como un complemento a la medición de los niveles del calcio total<sup>12-15</sup> y las determinaciones de fósforo,<sup>14,16</sup> cloruro,<sup>12</sup> AMP cíclico nefrogénico<sup>14,17,18</sup> y posiblemente la calcitonina<sup>14</sup> también pueden (en ciertas circunstancias) ayudar en la interpretación de los resultados de PTH y calcio. También se deberá recordar que la hipercalcinemia y la hipocalcemia pueden ser secundarias a un desorden en el metabolismo de la vitamina D.<sup>19</sup>

Las muestras lipémicas, hemolizadas, ictericas o ampliamente contaminadas pueden dar resultados erróneos.

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los

inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

### Características Analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo ver las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/ml.

A menos que se especifique lo contrario, todos los datos de rendimiento se generaron con muestras de plasma y EDTA.

**Factor de Conversión:**  
pg/ml × 0,1053 → pmol/l

**Intervalo de calibración:**  
Hasta 2 500 pg/ml (263 pmol/l).

**Sensibilidad:** 3,0 pg/ml (0,3 pmol/l).

**Efecto de gancho a altas dosis:**  
Ninguno hasta 500 000 pg/ml (50 000 pmol/l).

**Precisión intraensayo (dentro de una tanda):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Precisión intraensayo").

**Precisión entre ensayos (de una tanda a otra):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 10 tomas distintas. (Véase la tabla de "Precisión entre ensayos").

**Linealidad:** Las muestras fueron analizadas en varias diluciones. (Ver la tabla de "Linearity" para resultados representativos.)

**Recuperación:** Se analizaron muestras sobrecargadas 1 en 19 con tres

soluciones de PTH intacta (900, 3 600 y 7 200 pg/ml). (Ver la tabla de "Recovery" para resultados representativos.)

**Especificidad:** El ensayo es altamente específico para PTH intacta (Ver la tabla de "Specificity").

Los anticuerpos usados en el kit fueron purificados por una cromatografía de afinidad para lograr especificidad para las regiones bien definidas de la molécula de PTH intacta. Los anticuerpos inmovilizados en la fase sólida (bolas recubiertas) son específicos para la región C-terminal (44-48) y no tienen reactividad cruzada detectable con la región N-terminal (1-34). Inversamente, el anticuerpo marcado con la enzima sólo reconoce la región N-terminal y no tiene reactividad cruzada con la región C-terminal o con región media de la molécula. Consiguientemente, el ensayo, el cual requiere tanto la unión de la enzima marcada como la de los anticuerpos de fase sólida, sólo puede reconocer PTH intacta y fragmentos muy grandes de PTH que son casi tan largos como la PTH intacta. Un fragmento de este tipo, PTH 7-84, muestra una reactividad cruzada significativa (44,8%)<sup>20</sup> en el ensayo IMMULITE 2000 PTH Intacta.

**Bilirubina:** La presencia de bilirrubina conjugada y no conjugada en concentraciones de hasta 200 mg/l puede ocasionar una bajada de los valores (Ver la tabla de "Bilirubin").

**Hemolisis:** La presencia de hemoglobina en concentraciones de hasta 513 mg/dl puede ocasionar una bajada de los valores. (Ver la tabla de "Hemolysis").

**Lipemia:** La presencia de triglicéridos en concentraciones de hasta 3,000 mg/dl puede ocasionar una bajada de los valores (Ver la tabla de "Lipemia").

**Comparación del Método 1:** El ensayo fue comparado con un ensayo inmunométrico quimioluminiscente (Kit A) en 79 muestras de suero (Rango de Concentración: aproximadamente 3 – 1 300 pg/ml. Ver el gráfico 1.) Por regresión lineal:

$$(IML 2000) = 0,90 (\text{Kit A}) - 6,9 \text{ pg/ml}$$
$$r = 0,904$$

Medias:  
224 pg/ml (IMMULITE 2000)  
255 pg/ml (Kit A)

**Comparación del Método 2:** El ensayo fue comparado con un ensayo radioinmunométrico (Kit B) en 99 muestras de suero. (Rango de Concentración: aproximadamente 3 – 1 300 pg/ml. Ver el gráfico 2.) Por regresión lineal:

$$(IML 2000) = 0,98 (\text{Kit B}) + 5,5 \text{ pg/ml}$$
$$r = 0,889$$

Medias:  
237 pg/ml (IMMULITE 2000)  
237 pg/ml (Kit B)

## Asistencia técnica

Póngase en contacto con el distribuidor nacional.

El Sistema de Calidad de Diagnostic Products Corporation está registrado para la ISO 13485:2003.

---

## Français

---

### IMMULITE 2000 PTH intacte

**Domaine d'utilisation :** Pour le dosage quantitatif de l'hormone parathyroïdienne (parathormone, PTH intacte) dans le plasma EDTA et serum. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE 2000 et constitue une aide au diagnostic de l'hypercalcémie et de l'hypocalcémie.

Référence catalogue :

**L2KPP2** (200 tests), **L2KPP6** (600 tests).

Code produit : **iPT**.

Code couleur : **vert foncé**.

### Introduction

La parathormone (PTH) est une mono chaîne polypeptidique comportant 84 acides aminés. Elle joue un rôle significatif sur le maintien d'une concentration optimale en calcium ionisé. La PTH contrôle les taux de calcium et de phosphore dans le sang en modifiant l'activité des cellules cibles de l'os et du rein. Elle stimule la libération du calcium et du phosphore à partir de l'os, elle stimule la réabsorption rénale du calcium et inhibe celle du phosphore. La régulation à long terme du calcium total corporel par la PTH

a lieu par sa stimulation du métabolisme de la Vitamine D, ce qui favorise l'absorption intestinale du calcium ionisé.<sup>1</sup>

Chez l'individu sain, la concentration du liquide extracellulaire en calcium ionisé et la calcémie ionisée qui en est le reflet constituent l'élément majeur contrôlant la sécrétion de parathormone. Chez l'homme, des variations très faibles de calcium ionisé en dessous de la normale entraînent rapidement une augmentation prononcée de la sécrétion de parathormone. Le retour à la normale des taux de calcium exerce un rétrocontrôle inhibant ainsi la sécrétion de la PTH par les glandes parathyroïdes.<sup>1</sup>

La PTH subit une protéolyse, à une moindre échelle dans les glandes parathyroïdiennes mais principalement au niveau périphérique, spécialement dans le foie mais aussi dans les reins et les os, pour conduire à des fragments N terminaux, des fragments C terminaux de plus longue demi-vie et des fragments de la zone intermédiaire. Le fragment N terminal porte la région qui confère la bioactivité. Les fragments C et N terminaux sont initialement générés en quantités équivalentes mais les fragments N terminaux disparaissent rapidement. Le fragment C terminal a une demi-vie de quelques heures. Dans l'insuffisance rénale, la clairance glomérulaire du fragment C terminal est diminuée, on trouve des valeurs élevées. C'est pourquoi les tests mesurant la fraction C terminale (tout comme les tests mesurant la zone intermédiaire) ne sont pas spécifiquement fiables dans l'insuffisance rénale où les taux élevés de PTH sont simplement dus à la diminution de la clairance rénale.<sup>1,2</sup>

Pour l'hormone intacte, la demi-vie in vivo est de 2 à 5 minutes<sup>3</sup>. La clairance de la PTH intacte est réalisée par la captation périrubulaire rénale et par la filtration glomérulaire suivie de la réabsorption. Lorsque la fonction rénale est normale, la PTH intacte représente la forme circulante de PTH la plus biologiquement active<sup>4</sup> et se trouve dans la circulation à des concentrations de  $10^{-11}$  à  $10^{-12}$  mol/l.<sup>2</sup>

Dans l'hypercalcémie consécutive à l'hyperparathyroïdisme primaire ou à une production ectopique de PTH (pseudo-hyperparathyroïdisme), la majorité des sujets présentent des taux élevés en PTH.

Au contraire, dans l'hypercalcémie liée à un processus tumoral ou d'autres causes, les concentrations en PTH circulante sont typiquement basses ou dans les limites des valeurs normales. Les taux de PTH sont également élevés dans l'hyperparathyroïdisme secondaire, habituellement associé à une insuffisance rénale, et dus à une stimulation constante des glandes parathyroïdiennes par les taux bas de calcium. L'hypocalcémie associée à des taux bas de PTH peut être retrouvée dans l'hypoparathyroïdisme post-chirurgical ou idiopathique.<sup>2,5,6</sup>

Des immunoessais spécifiques de différents fragments de PTH ont été développés. La plupart reposent sur des antisérums spécifiques d'une partie de la molécule : C terminale ou N terminale ou intermédiaire. Les antisérums utilisés dans de tels essais, reconnaissent non seulement la région spécifique, mais aussi des fragments similaires.<sup>1,4</sup>

Les tests plus récents pour la PTH intacte ont une sensibilité requise pour détecter la PTH intacte circulante et différencier les taux normaux de ceux rencontrés dans l'hyperparathyroïdisme primaire. Ces tests semblent mieux discriminer l'hyperparathyroïdisme primaire de l'hypercalcémie maligne que les tests précédents et ce, sans chevauchement entre ces groupes.<sup>4</sup>

La sensibilité clinique très améliorée est retrouvée avec les tests pour lesquels on utilise des intervalles dynamiques de référence (basés sur un ensemble de valeurs de PTH sérique obtenues par des modifications intenses du calcium sérique chez des individus sains) plutôt qu'un domaine de référence gaussien (basé sur des valeurs obtenues chez des individus normocalcémiques). En utilisant un test immunoradiométrique de la PTH et lui appliquant une courbe de référence dynamique, Lepage et col. ont obtenu une sensibilité clinique moyenne jusqu'à 100 % avec des échantillons d'hyperparathyroïdisme primaire et d'hypoparathyroïdisme. D'ailleurs, seuls les tests mesurant la PTH intacte permettent une complète distinction entre les sujets atteints d'hyperparathyroïdisme primaire et les hypercalcémies non parathyroïdiennes.<sup>7</sup>

## Principe du test

Le test IMMULITE 2000 PTH intacte est un dosage immunométrique, enzymatique, chimiluminescent en deux étapes en phase solide.

**Cycles d'incubation** : 1 × 60 minutes.

## Recueil des échantillons

En raison de l'élévation nocturne des taux de PTH intacte, les échantillons devraient être prélevés le matin, après 7 heures, de préférence sur un sujet à jeun depuis la veille au soir. (Une étude réalisée par Logue, *et al.* suggère que les échantillons prélevés après 10 heures peuvent aider à discerner les sujets normaux des patients atteints d'une hyperparathyroïdie primaire légère.<sup>8</sup>)

Prélever le sang par ponction veineuse dans des tubes de plasma EDTA plastiques ou des tubes de sérum plastiques normaux (avec ou sans barrière de gel), en évitant l'hémolyse. Aussi bien le plasma que le sérum devraient être séparés des cellules dès que possible.

**Pour le plasma EDTA**, conserver les échantillons au froid (2°–8°C) durant les processus de collecte et de séparation. Séparer le plasma des cellules en utilisant une centrifugeuse réfrigérée si possible. Noter que les tubes EDTA pour le prélèvement doivent être remplis jusqu'à leur capacité totale. Si le tube n'est pas rempli complètement, il en résultera un excès de concentration d'EDTA qui interfèrera avec le dosage et entraînera une fausse diminution des valeurs.

**Pour le sérum**, laisser l'échantillon parvenir à une complète coagulation à température ambiante. Séparer les cellules du sérum en utilisant une centrifugeuse, si possible.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Les tubes de prélèvement de sang de différents fabricants peuvent donner des valeurs différentes, dépendant des matériaux et des adjuvants, y compris le gel ou les barrières physiques, les activateurs de coagulation et/ou les anticoagulants. IMMULITE 2000 Intact PTH a été testé avec des tubes BD Vacutainer™ plastiques (sérum seul, SST et EDTA). Il n'a pas été testé avec toutes les variations possibles de types de tubes.

**Volume nécessaire** : 50 µl de serum ou le plasma.

**Conservation** : Les échantillons peuvent être conservés à 2°–8°C jusqu'à 8 heures après le prélèvement. Aliquoter et congeler pour une conservation prolongée jusqu'à 2 mois à –20°C.

## Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

**Réactifs** : conserver les réactifs à 2°–8°C. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-HCV et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

**Substrat chimiluminescent** : éviter les contaminations et l'exposition directe à la lumière solaire (voir la fiche technique).

**Eau** : utiliser uniquement de l'eau distillée ou désionisée.

## Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

### Cartouche de billes PTH intacte (L2PP12)

Avec code-barres. 200 billes revêtues d'un anticorps monoclonal murin purifié par affinité anti-PTH (44-84). Stable à 2°-8°C jusqu'à la date de péremption.

**L2KPP2** : 1 cartouche.

**L2KPP6** : 3 cartouches.

### Cartouche à réactif PTH intacte (L2PPA2)

Avec code-barres. 11,5 ml d'un réactif composé d'anticorps polyclonal de chèvre purifié par affinité anti PTH (1-34) marqué à la phosphatase alcaline (provenant des intestins de veau) dans un tampon, avec conservateur. Stable à 2°-8°C jusqu'à la date de péremption.

**L2KPP2** : 1 cartouche.

**L2KPP6** : 3 cartouches.

Avant l'emploi, retirer la partie supérieure de l'étiquette au niveau des perforations en ayant soin de ne pas endommager le code-barres. Retirer le film protecteur situé sur la partie supérieure de la cartouche-réactif ; insérer le couvercle coulissant entre les glissières sur le dessus de la cartouche-réactif.

### Ajusteurs PTH intacte (LPHL, LPHH)

2 flacons d'ajusteurs ("haut" et "bas") de PTH intacte humaine de synthèse lyophilisée dans une matrice tamponnée. Reconstituer chaque flacon avec **2,0 ml** d'eau distillée ou désionisée, puis placer immédiatement l'Ajusteur sur la glace. Mélanger doucement. *Utiliser uniquement des ajusteurs fraîchement reconstitués* pour chaque test. *Ne pas congeler.*

**L2KPP2** : 3 jeux. **L2KPP6** : 5 jeux.

Avant de procéder à un ajustement, placer les étiquettes correspondant à l'aliquot (fournies avec le coffret) sur des tubes en verre de sorte que les code-barres soient lisibles par le lecteur.

## Composants du coffret fournis séparément

### Diluant échantillon PTH intacte (L2PHZ)

Pour la dilution à bord des échantillons de concentration élevée. 25 ml d'une matrice tamponnée sans PTH, concentrée, prête à l'emploi. Stable à 2°-8°C 30 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à -20°C.

Les étiquettes code-barres sont fournies avec le Diluant. Avant utilisation, placer l'étiquette correspondante sur un tube (16 x 100 mm) de manière à ce que le code-barre puisse être lu par l'appareil.

**L2PHZ** : 3 étiquettes

**L2SUBM** : Substrat chimiluminescent

**L2PWSM** : Solution de lavage

**L2KPM** : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

**LRXT** : Godets réactionnels (jetables)

**L2ZT** : 250 Tubes À essai De Diluant échantillon (16 x 100 mm)

**L2ZC** : 250 Bouchons pour tubes de diluants

**LPHCM** : contrôle PTH intacte à deux niveaux de concentration, dans une matrice tamponnée.

Egalement requis

Eau distillée ou désionisée ; tubes ; contrôles

## Protocole de dosage

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation IMMULITE 2000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE 2000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

**Intervalle d'ajustement recommandé** : 4 semaines.

### Echantillons pour le contrôle de qualité :

Utiliser des contrôles ou des pools de sérums avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de PTH intacte.

## Valeurs de référence

Une étude d'étendue de référence a été menée sur des échantillons assortis de sérum et de plasma EDTA sur 88

bénévoles apparemment en bonne santé, prélevés dans des tubes Vacutainer™ en plastique BD. Les échantillons assortis ont été analysés sur des dosages IMMULITE/IMMULITE 1000 Intacte PTH et IMMULITE 2000 Intacte PTH. Les analyses de ces données indiquaient une différence qui n'était pas statistiquement significative, bien qu'il y ait eu une différence nette dans les étendues de référence entre le sérum et le plasma EDTA. Les étendues de référence suggérées dans cette étude pour l'IMMULITE/IMMULITE 1000 Intacte PTH et IMMULITE 2000 Intacte PTH tant pour le sérum que pour le plasma EDTA sont indiquées dans le tableau suivant.

	Médiane	Centré 95% Domaine (pg/ml)
Plasma EDTA	38	16 – 87
Sérum	30	11 – 67

L'étendue de référence pour le sérum concorde avec une étude d'étendue de référence multi-site, conduite avec IMMULITE 2000 intacte PTH sur des échantillons de sérum 255 sur des sujets apparemment en bonne santé. L'ensemble a donné une moyenne de 32 pg/ml. L'étendue de référence suggérée par cette étude est :

12 – 65 pg/ml (1,3 – 6,8 pmol/l).

Utiliser ces valeurs à titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

### Limites

Ce test est strictement destiné au diagnostic différentiel de l'hypercalcémie et de l'hypocalcémie, et *non* pour le diagnostic ou la surveillance de tumeurs malignes.

Compte tenu de la relation physiologique entre le calcium circulant et la PTH, il est toujours important d'interpréter les résultats du PTH en fonction des taux de calcium total ou ionisé.<sup>9,10</sup> La découverte d'un calcium constamment élevé-normal, accompagné d'une PTH élevée-normale (alternativement, un calcium bas-normal accompagné d'une PTH basse-normale) nécessite de plus amples investigations ; la PTH, bien qu'elle soit dans des limites normales, peut être encore anormalement

élevée (ou anormalement basse) par rapport au taux de calcium circulant.<sup>11</sup>

Les indices de fonction rénale, c'est-à-dire les taux de créatinine, le dosage de l'albumine, peuvent être demandés comme supplément au dosage des taux de calcium *total*<sup>12-15</sup> et les dosages de phosphore,<sup>14,16</sup> chlorure,<sup>12</sup> AMP cyclique rénal<sup>14,17,18</sup> et éventuellement de calcitonine,<sup>14</sup> peuvent aussi (dans certaines circonstances) aider à interpréter les résultats de la PTH et du calcium. Il faut aussi se souvenir que l'hypercalcémie et l'hypocalcémie peuvent résulter d'un mauvais métabolisme de la vitamine D.<sup>19</sup>

Des échantillons lipémiques, hémolysés, ictériques ou fortement contaminés peuvent donner des résultats erronés.

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des rares sérums et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

### Performances du test

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en pg/ml.

Sauf indication contraire, toutes les données relatives à la performance ont été générées avec des échantillons de plasma EDTA.

#### Facteur de conversion :

pg/ml × 0,1053 → pmol/l

#### Domaine de mesure : jusqu'à

2 500 pg/ml (263 pmol/l).

**Sensibilité analytique** : 3,0 pg/ml (0,3 pmol/l).

**Effet-crochet aux doses élevées** : Aucun jusqu'à 500 000 pg/ml (50 000 pmol/l).

**Précision intra-assai** : les valeurs ont été établies à partir d'échantillons dosés 20 fois dans une même série. (Voir le tableau "Intra-assay Precision".)

**Précision inter-assai** : les valeurs ont été établies à partir d'échantillons, chacun dosé dans 10 séries différentes. (Voir le tableau "Intra-assay Precision".)

**Linéarité** : les échantillons ont été testés avec des taux de dilution variés. (Voir le tableau "Linearity" pour des données représentatives.)

**Récupération** : les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions de PTH intacte (900, 3 600 et 7 200 pg/ml). (Voir le tableau "Recovery" pour des données représentatives.)

**Spécificité** : L'anticorps est hautement spécifique de la PTH intacte. (Voir le tableau "Specificity".)

Les anticorps utilisés dans le coffret ont été purifiés par chromatographie d'affinité pour obtenir la spécificité des zones bien définies de la molécule de PTH intacte. Les anticorps coâtés sur la phase solide (bille revêtue) sont spécifiques de la zone terminale C (44-84) et non aucune réactivité croisée décelable avec l'extrémité N (1-34). Inversement, l'anticorps conjugué à l'enzyme reconnaît seulement l'extrémité N, et n'a pas de réactivité croisée détectable avec les extrémités C ou intra-moléculaires. En conséquence, le test, qui nécessite la liaison à la fois par les anticorps conjugués et les anticorps de phase solide, ne peut reconnaître que la PTH intacte ou des fragments très importants de PTH, presque aussi longs que la PTH intacte elle-même. Un de ces fragments, la PTH 7-84, montre une réaction croisée 44,8%<sup>20</sup> avec le test Immulite 2000 PTH intacte.

**Bilirubine** : La présence de bilirubine conjuguée ou non à des concentrations de 200 mg/l entraîne une diminution significative des valeurs. (voir le tableau "bilirubine").

**Hemolysis** : La présence d'hémoglobine à des concentrations de 513 mg/dl entraîne une diminution significative des valeurs. (voir le tableau "hémolyse").

**Lipémie** : La présence de triglycérides jusqu'à une concentration de 3 000 mg/dl n'interfère ni sur la précision du dosage, ni sur les résultats. (voir le tableau "Lipémie").

**Comparaison de méthodes 1** : le test a été comparé à un test immunométrique chimiluminescent (coffret A) sur 79 échantillons de sériques (dont les concentrations allaient d'environ 3 – 1 300 pg/ml. Voir graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,90 (Kit A) – 6,9 pg/ml  
r = 0,904

Moyennes :  
224 pg/ml (IMMULITE 2000)  
255 pg/ml (Kit A)

**Comparaison de méthodes 2** : le test a été comparé à un test radio-immunométrique (coffret B) sur 99 échantillons de sériques (dont les concentrations allaient d'environ 3 – 1 300 pg/ml. Voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(IML 2000) = 0,98 (Kit B) + 5,5 pg/ml  
r = 0,889

Moyennes :  
237 pg/ml (IMMULITE 2000)  
237 pg/ml (Kit B)

## Assistance technique

Contactez votre distributeur national. En France distribué par DPC France 90 bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Le système d'assurance qualité de DPC est certifié ISO 13485 (2003).

---

## Italiano

---

### IMMULITE 2000 PTH Intatto

**Uso**: Per prove diagnostiche *in vitro* con l'analizzatore IMMULITE 2000 — per la misurazione quantitativa dell'ormone paratiroideo (paratirina, PTH Intatto) nel plasma EDTA e siero, quale ausilio nella diagnosi differenziale dell'ipercalcemia e dell'ipocalcemia.

Codice: **L2KPP2** (200 test), **L2KPP6** (600 test).

Codice del Test: **iPT** Colore: **Verde Scuro**

## RIASSUNTO E SPIEGAZIONE DEL TEST

L'ormone paratiroideo (paratirina, PTH), un polipeptide a catena singola contenente 84 aminoacidi, esercita un'influenza significativa sul mantenimento di concentrazioni ottimali di ioni calcio. Il PTH innalza i livelli di calcio ionizzato attraverso l'azione diretta sulle ossa e sui reni: aumenta il tasso del flusso di calcio ionizzato dalle ossa al fluido extracellulare ed aumenta sia il riassorbimento tubulare renale del calcio ionizzato che la secrezione renale di fosfato. La regolazione a lungo termine del calcio in tutto l'organismo avviene attraverso la stimolazione del metabolismo della vitamina D, che provoca un aumento dell'assorbimento da parte dell'intestino del calcio ionizzato.<sup>1</sup>

In individui sani, il PTH viene secreto in risposta ai livelli di ioni calcio in circolo. Qualsiasi flessione al di sotto dei livelli normali provoca un considerevole incremento nella secrezione del PTH. I livelli di calcio che ritornano alla normalità esercitano un effetto di feedback negativo, inibendo la secrezione del PTH da parte delle ghiandole paratiroidee.<sup>1</sup>

Il PTH subisce proteolisi ma in maniera minore rispetto alle ghiandole paratiroidee ed in maniera più periferica - specialmente nel fegato, ma anche nei reni e nelle ossa - producendo frammenti N-terminali e frammenti C-terminali con vita più lunga e frammenti della regione mediana. I frammenti N-terminali contengono la regione che conferisce bioattività. I frammenti C-terminali ed N-Terminali vengono inizialmente generati in quantità equivalenti, ma i frammenti N-terminali spariscono rapidamente. I frammenti C-terminali hanno un'emivita di parecchi giorni. Nei disturbi renali, la clearance dei frammenti C-terminali viene ad affievolirsi attraverso filtrazione glomerulare, provocando in tal modo livelli elevati di PTH. I dosaggi dei frammenti C-terminali (cosiccome quelli della regione mediana) sono conseguentemente poco affidabili nei disturbi renali cronici, dove livelli elevati di PTH sono solo il riflesso di una

clearance renale non perfettamente funzionante.<sup>1,2</sup>

Per l'ormone intatto, l'emivita in-vivo è di 2-5 minuti.<sup>3</sup> La clearance del PTH intatto viene effettuata sia con assorbimento peritubulare che con filtrazione glomerulare seguita da riassorbimento. Nella funzionalità renale normale, il PTH intatto costituisce la parte più consistente della bioattività PTH-simile in circolo ed è presente in circolo a concentrazioni da 10-11 a 10-12 mol/L.<sup>2</sup>

Nell'ipercalcemia dovuta ad iperparatiroidismo primario o a produzione di PTH ectopico (pseudoiperparatiroidismo), la maggior parte dei pazienti presenta livelli elevati di PTH. Al contrario, nell'ipercalcemia dovuta a tumore o ad altre cause, la concentrazione di PTH in circolo è tipicamente bassa o entro limiti di riferimento normali. I livelli di PTH si presentano elevati nell'ipertiroidismo secondario - normalmente associato a disturbi renali - quale risultato di una costante stimolazione della ghiandola paratiroidea dovuta a livelli bassi di calcio. L'ipocalcemia accompagnata da livelli bassi di PTH, d'altro canto, viene riscontrata nell'ipoparatiroidismo, sia postchirurgico che idiopatico.<sup>2,5,6</sup>

Sono stati sviluppati immunodosaggi specifici per i vari frammenti di PTH. Molti di essi si basano su antisieri specifici per regioni distinte: la regione C-terminale, N-terminale o molecola mediana. Gli antisieri utilizzati in tali dosaggi riconoscono non solo la regione specifica, ma anche frammenti simili.<sup>1,4</sup>

Dosaggi recenti per il PTH Intatto possiedono la sensibilità necessaria per l'individuazione del PTH intatto in circolo in individui normali e per discriminare tra questi ultimi e quelli con iperparatiroidismo primario. Questi dosaggi sembrano anche discriminare meglio tra iperparatiroidismo primario ed ipercalcemia maligna se paragonati a dosaggi antecedenti. Ciò avviene senza nessuna sovrapposizione significativa tra questi gruppi.<sup>4</sup>

Si registra una sensibilità clinica molto migliore per i dosaggi del PTH quando sono utilizzati gli intervalli di riferimento dinamico (basati su un range di valori di PTH sierico ottenuti da modifiche consistenti delle concentrazioni di calcio

sierico in individui sani), al posto del range di riferimento gaussiano (basato su valori di PTH riscontrati in individui normocalcemicici). Lepage et al. utilizzando un dosaggio immunoradiometrico per il PTH Intatto ed applicando un range di riferimento dinamico ha ottenuto una sensibilità clinica media fino al 100% con campioni iper ed ipoparatiroidici. Inoltre, solo il dosaggio del PTH Intatto ha consentito la completa separazione tra iperparatiroidismo primario ed ipercalcemia non paratiroidica.<sup>7</sup>

### Principio del procedimento

Il dosaggio IMMULITE 2000 PTH Intatto è un dosaggio immunometrico sequenziale a due siti chemiluminescente in fase solida.

**Cicli d'incubazione:** 1 × 60 minuti.

### Raccolta del Campione

Siccome durante la notte si registrano aumenti nei livelli di PTH Intatto, i campioni dovrebbero essere prelevati al mattino, dopo le 7, e preferibilmente dopo una notte a digiuno, (Uno studio condotto da Logue, et al. suggerisce che il prelievo di campioni eseguito dopo le 10 di mattina potrebbe ottimizzare la differenziazione tra soggetti normali e pazienti con un lieve iperparatiroidismo.<sup>8</sup>)

Prelevare il sangue in provette di plastica EDTA per il plasma o in provette di plastica per il siero (con o senza barriere di gel), evitando l'emolisi. Sia il plasma che il siero devono essere separati dalle cellule prima possibile.

**Per il plasma EDTA,** mantenere i campioni refrigerati (2–8°C) lungo l'intero processo di prelievo e di separazione. Separare il plasma dalle cellule, utilizzando, se possibile, una centrifuga refrigerata. Attenzione le provette EDTA devono essere riempite fino al limite. Il mancato riempimento completo della provetta provocherà un'eccessiva concentrazione dell'EDTA, che interferirà con il dosaggio provocando un falso decremento dei valori.

**Per il siero,** fare in modo che i campioni coagulino a temperatura ambiente. Separare il siero dalle cellule, utilizzando, se possibile, una centrifuga refrigerata.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugarli. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

I campioni lipemici, emolizzati, itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

Provette per il sangue di produttori diversi possono dare risultati diversi, in relazione ai materiali ed agli additivi, inclusi barriere di gel o fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. Il dosaggio IMMULITE 2000 PTH Intatto è stato testato con provette di plastica BD Vacutainer™ (provette semplici per il siero, SST ed EDTA). Non è stato testato con tutti i tipi possibili di provette.

**Volume richiesto:** 50 µL di siero o plasma.

**Conservazione:** I campioni possono essere conservati a 2–8°C fino a 8 ore dopo il prelievo. Per una conservazione prolungata, aliquotare e congelare fino a 2 mesi a –20°C.

### Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

**Reagenti:** Conservare i reagenti a 2–8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la Sifilide, gli Anticorpi Anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

**Substrato Chemiluminescente:** Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta (Vedi metodica.)

**Acqua:** Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

### Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

#### Contenitore di Sferette PTH Intatto (L2PP12)

Con codice a barre. 200 biglie coattate con un anticorpo monoclonale murino anti-PTH (44-84) purificato per affinità. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

**L2KPP2:** 1 confezione.

**L2KPP6:** 3 confezioni.

#### Porta Reagente PTH Intatto (L2PPA2)

Con codice a barre. 11,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di capra anti-PTH (1-34) purificato per affinità, in un tampone, con conservanti. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

**L2KPP2:** 1 porta reagente.

**L2KPP6:** 3 porta reagenti.

Prima dell'utilizzo rimuovere la parte superiore dell'etichetta lungo la perforazione senza danneggiare il codice a barre. Togliere il foglio protettivo dalla parte superiore del flacone. Far scattare nella corretta posizione il coperchio scorrevole lungo le guide del coperchio del reagente.

#### Calibratori PTH Intatto (LPHL, LPHH)

Due flaconi (Basso ed Alto), ciascuno con PTH Intatto sintetico umano liofilo in una matrice/tampone. Ricostituire ogni flacone con **2,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare agitando delicatamente o capovolgendo la miscela finché, quindi collocarlo immediatamente nel ghiaccio. E' importante mantenere i calibratori costantemente refrigerati durante l'intero processo, ed utilizzarli immediatamente dopo la ricostituzione.

*Non Congelare.*

**L2KPP2:** 3 set. **L2KPP6:** 5 set.

Prima di ricalibrare collocare le etichette giuste sulle provette delle aliquote (fornite col kit) cosicché i codici a barre possano essere registrati dal lettore.

### Componenti del kit forniti separatamente

#### Diluyente del PTH Intatto (L2PHZ)

Per la diluizione interna di campioni ad elevata concentrazione. 25 mL di un concentrato (pronto all'uso), composto da matrice/tampone priva di PTH.

Conservazione: 30 giorni (dopo l'apertura) a 2-8°C oppure 6 mesi (aliquote) a -20°C.

Vengono fornite le provette da utilizzarsi con il diluyente. Prima dell'utilizzo, collocare un'etichetta appropriata su una provetta 16 x 100 mm, cosicché il codice a barre possa essere registrato dal lettore interno

**L2PHZ:** 3 etichette

**L2SUBM:** Substrato Chemiluminescente

**L2PWSM:** Tampone di Lavaggio dell'Ago

**L2KPM:** Kit di Pulizia dell'Ago

**LRXT:** Tubi di Reazione (monouso)

**L2ZT:** 250 Provette (16 x 100 mm) per

Diluyente del Campione

**L2ZC:** 250 Tappini per Provette per

Diluyente del Campione

**LPHCM:** controllo a 2 livelli su matrice/tampone.

Materiali richiesti

Acqua distillata o deionizzata; provette di vetro; controlli.

### Procedura del Dosaggio

Attenzione: per prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definite nel Manuale dell'Operatore IMMULITE 2000.

Consultare il Manuale d'Uso IMMULITE 2000 per: preparazione, messa a punto, diluizioni, calibrazione, dosaggi e procedure di controllo di qualità.

**Intervallo di Calibrazione Consigliato:** 4 settimane.

**Controllo di Qualità:** Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (Alto e Basso) di PTH Intatto.

### Valori Attesi

E' stato condotto uno studio sui range di riferimento, su campioni misti di plasma e siero EDTA provenienti da 88 volontari in apparente buono stato di salute, e prelevati in provette di plastica BD Vacutainer™. I campioni misti sono stati

dosati sia con il dosaggio IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH Intatto che con il dosaggio IMMULITE 2000 PTH Intatto. L'analisi dei dati non ha indicato nessuna diversità statistica significativa tra le piattaforme, benché ci fosse una chiara differenza nei range di riferimento tra plasma e siero EDTA. I range di riferimento suggeriti da questo studio per i dosaggi IMMULITE/IMMULITE 1000 PTH Intatto ed IMMULITE 2000 PTH Intatto sia per il plasma che per il siero EDTA sono presentati nella tabella di seguito riportata.

	Media	Centrale 95% Range (pg/mL)
Plasma EDTA	38	16 – 87
Siero	30	11 – 67

Il range di riferimento per il siero correla bene con il range di riferimento di uno studio multi-centrico precedente, condotto con il dosaggio IMMULITE 2000 PTH Intatto su 255 campioni di siero provenienti da soggetti in apparente buono stato di salute. Questa popolazione ha prodotto una mediana di 32 pg/mL. Il range di riferimento suggerito da questo studio è:

12 – 65 pg/mL (1,3 – 6,8 pmol/L).

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

### Limiti

Il dosaggio è inteso strettamente quale ausilio nella diagnosi differenziale di ipercalcemia ed ipocalcemia, *ma non* per la diagnosi o cura di tumori maligni.

Poiché esiste una relazione fisiologica tra il calcio in circolazione ed il PTH, è sempre importante interpretare i risultati PTH alla luce dei livelli di calcio totali o ionizzati.<sup>9,10</sup> La presenza di calcio persistentemente alto-normale, accompagnata da PTH alto-normale (in alternativa, calcio basso-normale, accompagnato da PTH basso-normale), necessita di ulteriore indagine; per quanto riguarda il PTH, anche se nei limiti normali, potrebbe ancora essere impropriamente alto (o impropriamente

basso) in relazione al livello di calcio in circolo.<sup>11</sup>

Indici di funzionalità renale, per es. livelli di creatinina; misurazioni dell'albumina, come complemento alla misurazione dei livelli *totali* di calcio,<sup>12,15</sup> e dosaggi di fosforo<sup>14,16</sup> cloruro,<sup>12</sup> AMP nefrogeno ciclico<sup>14,17,18</sup> e possibilmente calcitonina<sup>14</sup> possono inoltre (in alcune circostanze) aiutare nell'interpretazione dei risultati di PTH e di calcio. È bene ricordare che l'ipercalcemia e l'ipocalcemia possono essere subordinate a disfunzioni del metabolismo della vitamina D.<sup>19</sup>

I campioni lipemici, emolizzati, itterici o grossolamente contaminati possono produrre risultati errati.

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti con questo dosaggio devono sempre essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

### Prestazioni del Dosaggio

Vedi tabelle e grafici per dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in pg/mL.

Se non diversamente specificato, tutti i dati delle prestazioni sono stati generati con campioni di plasma EDTA.

**Fattore di Conversione:**  
pg/mL × 0,1053 → pmol/L

**Range di Calibrazione:** fino a 2 500 pg/mL (263 pmol/L).

**Sensibilità Analitica:** 3,0 pg/mL (0,3 pmol/L).

**Effetto Gancio per Dosi Elevate:**

Nessuno fino a 500 000 pg/mL  
(50 000 pmol/L).

**Precisione Intra-Dosaggio (All'interno della stessa seduta):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 replicati in un'unica seduta (Vedi la tabella "Intraassay Precision").

**Precisione Inter-Dosaggio (Da una seduta all'altra):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 10 sedute diverse (Vedi la tabella "Interassay Precision").

**Linearità:** Sono stati dosati campioni a varie diluizioni. (Vedi la Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

**Recupero:** Sono stati dosati campioni 1:19 ai quali sono state aggiunte tre soluzioni di PTH Intatto (900, 3 600 e 7 200 pg/mL). (Vedi la Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

**Specificità:** Il dosaggio è estremamente specifico per il PTH Intatto. (Vedi la Tabella "Specificity".)

Gli anticorpi utilizzati nel kit sono stati purificati con cromatografia per affinità al fine di raggiungere una specificità per regioni ben definite della molecola di PTH intatto. Gli anticorpi coattati alla fase solida (sferetta) sono specifici per la regione C-terminale (44-84) e non presentano crossreattività rilevabile con la regione N-terminale (1-34). Per contro, l'anticorpo legato all'enzima riconosce solo la regione N-terminale e non presenta crossreattività apparente con la regione C-terminale o con altre regioni molecolari mediane. Di conseguenza, il dosaggio, che richiede il legame sia da parte dell'anticorpo enzima legato che della fase solida, è in grado di riconoscere esclusivamente il PTH intatto e frammenti quasi grandi quanto il PTH stesso. Uno di questi frammenti, il PTH 7-84, presenta una crossreattività significativa (44,8%)<sup>20</sup> con il dosaggio IMMULITE 2000 PTH.

**Bilirubina:** La presenza di bilirubina coniugata e non coniugata in concentrazioni fino a 200 mg/L può causare un decremento dei valori. (Vedi tabella "Bilirubin").

**Emolisi:** La presenza di emoglobina in concentrazioni fino a 513 mg/dL può provocare un decremento dei valori (Vedi tabella "Emolisi")

**Lipemia:** La presenza di trigliceridi in concentrazioni fino a 3 000 mg/dL può causare una depressione dei valori. (Vedi tabella "Lipemia".)

**Comparazione di Metodi 1:** La prova è stata paragonata al un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza. (Kit A) su 79 campioni di siero. (Range di concentrazione: da 3–1 300 pg/mL. Vedere la grafica 1.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,90 (Kit A) – 6,9 pg/mL  
r = 0,904

Valore medio:  
224 pg/mL (IMMULITE 2000)  
255 pg/mL (Kit A)

**Comparazione di Metodi 2:** La prova è stata paragonata al un dosaggio radioimmunometrico (Kit B) su 99 campioni di siero. (Range di concentrazione: da 3–1 300 pg/mL. Vedere la grafica 2.) Mediante regressione lineare:

(IML 2000) = 0,98 (Kit B) + 5,5 pg/mL  
r = 0,889

Valore medio:  
237 pg/mL (IMMULITE 2000)  
237 pg/mL (Kit B)

**Assistenza tecnica**

Contattare il distributore nazionale.

Il Sistema Qualità della Diagnostic Products Corporation è certificato secondo le norme ISO 13485:2003.

---

**Português**

---

**IMMULITE 2000 PTH Intacta**

**Utilização:** Para o doseamento da hormona Paratiroideia (PTH intacta) em plasma EDTA e soro, em conjunto com o Analisador IMMULITE 2000, como auxílio do diagnóstico diferencial de hipercalcemia e hipocalcemia.

Números de catálogo:  
**L2KPP2** (200 testes)  
**L2KPP6** (600 testes).

Código do teste: **iPT**. Cor: **Verde escuro**

## Sumário e explicação do teste

A paratormona (PTH) é um polipéptido de uma única cadeia com 84 aminoácidos, que exerce uma influência significativa na manutenção da concentração óptima do ião cálcio (Ca<sup>2+</sup>). A PTH aumenta os níveis de cálcio ionizado no soro através da sua acção directa nos ossos e nos rins: isto aumenta o fluxo do ião cálcio do osso para o fluido extra celular, e aumenta a reabsorção tubular renal do ião cálcio e a excreção renal do fosfato. A regulação a longo prazo do Ca<sup>2+</sup> no organismo é feita pela PTH devido à estimulação pelo metabolismo da Vitamina D, que resulta numa elevação da absorção intestinal do Ca<sup>2+</sup>.<sup>1</sup>

Em indivíduos saudáveis, a PTH é segregada em resposta aos níveis de Ca<sup>2+</sup> circulante. Qualquer descida para valores abaixo do normal induz um aumento pronunciado da secreção de PTH. Quando os níveis de Ca<sup>2+</sup> voltam ao normal exercem um efeito de “feedback” negativo, inibindo dessa forma, a secreção de PTH pelas glândulas paratiroideias.<sup>1</sup>

A PTH sofre proteólise em menor extensão nas glândulas paratiroideias do que periféricamente – nos rins, nos ossos e, especialmente, no fígado - para libertar fragmentos do terminal C (carboxílico), mais estável, e da região mediana. O fragmento do terminal N (amínico) contém a região bioactiva. Os fragmentos do terminal C e do terminal N são gerados em quantidades equivalentes, mas os fragmentos do terminal N desaparecem rapidamente. O fragmento do terminal C tem um tempo de meia vida de poucas horas. Em falhas renais o “clearance” do fragmento C-terminal por filtração glomerular é debilitado, daí que se detectem valores elevados. Doseamentos de C-terminal (assim como da região mediana) é consequentemente plausível serem pouco fidedignos em casos de incapacidaderenal crónica, onde um aumento de PTH é um reflexo típico de falhas no “clearance” renal.<sup>1,2</sup>

O tempo de meia vida “in vivo” da hormona intacta é de 2 a 5 minutos. O “clearance” da PTH intacta é realizado pelo “uptake” peritubular e pela filtração tubular seguidos de reabsorção. Perante o funcionamento renal normal, a maior parte

da PTH circulante com bioactividade “PTH-like” encontra-se na forma intacta e está presente em concentrações de 10-11 a 10-12 mol/L.<sup>2</sup>

Na hipercalcemia devida a um hiperparatiroidismo primário ou à produção ectópica de PTH (pseudo hiperparatiroidismo), a maioria dos pacientes têm elevados níveis de PTH. Em contraste, na hipercalcémia devida a malignidade ou outras causas, a concentração de PTH na circulação é tipicamente baixa ou dentro dos limites normais de referência. Os níveis de PTH também são caracteristicamente altos no hiperparatiroidismo secundário – usualmente associado a deficiências renais – como resultado de uma estimulação constante da glândula paratiroideia pelos valores baixos de Ca<sup>2+</sup>. Por outro lado, espera-se que no hiperparatiroidismo, assim como no pós-cirurgia ou na idiopatia, existe hipocalcémia paralelamente com baixos níveis de PTH.<sup>2,5,6</sup>

Têm sido desenvolvidos diversos imunoensaios específicos para variados fragmentos de PTH. São de maior confiança os antisoros específicos para uma região discreta: C-terminal, N-terminal ou mediana. O antisoro aplicado em tais testes, reconhece não só a região específica mas também fragmentos similares.

Os testes recentes para PTH intacta têm a sensibilidade necessária para detectar a PTH intacta em indivíduos normais e para discriminar indivíduos normais daqueles com hiperparatiroidismo primário. Estas análises também podem ser utilizadas para fazer melhor discriminação entre hiperparatiroidismo primário e hipercalcémia da malignidade, comparativamente com testes antecedentes, e fazem-no praticamente sem qualquer sobreposição entre estes dois grupos.<sup>4</sup>

Têm sido publicados métodos de doseamento de PTH com sensibilidade bastante melhorada, com a utilização de intervalos de referência dinâmicos (baseados numa gama de valores de PTH obtidos por modificação aguda de concentração serológica em indivíduos saudáveis), em vez de uma série de valores de referência gaussianos (baseados em

valores de PTH em indivíduos com níveis de Ca<sup>2+</sup> normais). Usando um método imunoradiométrico para PTH intacta e aplicando intervalos de referência dinâmicos, Lepage, *et al.* Obtiveram uma sensibilidade clínica média de mais de 100% com amostras de hiper e hipoparatiroidismo primário. Além disso, apenas o doseamento da PTH intacta permite a separação completa entre pacientes hipercalcêmicos com hiperparatiroidismo primário, daqueles que possuem paratiroide normal.<sup>7</sup>

### Princípio do procedimento

IMMULITE 2000 PTH intacta é um solid-phase, assay immunometric chemiluminescent seqüencial do dois-local.

**Ciclos de incubação:** 1 × 60 minutos.

### Colheita

Devido ao aumento noturno de níveis de PTH intacta, as amostras devem ser colhidas pela manhã, após as 7 horas, e preferivelmente após manter jejum durante a noite. (Um estudo realizado por Logue, *et al.* sugere que amostras colhidas após as 10 horas da manhã podem otimizar a discriminação entre indivíduos normais e pacientes com hiperparatiroidismo primário leve.<sup>8</sup>)

Coletar o sangue por punção venosa em tubos plásticos para plasma EDTA ou em tubos de plástico comum para soro (com ou sem barreira de gel), evitando-se a hemólise. Ambos, soro e plasma devem ser separados das células o mais rápido possível.

**Para o plasma colhido com EDTA,** manter as amostras no frio (2–8°C) durante o processo de colheita e separação. Separar o plasma das células, quando possível, numa centrifuga refrigerada. Note que os tubos de colheita com EDTA devem ser completamente cheios, caso contrário resultará num excesso de concentração de EDTA, que irá interferir com o doseamento e causar uma falsa diminuição nos resultados.

**No caso do soro,** deixar que o coágulo se forme completamente à temperatura ambiente. Separar o soro das células, quando possível, numa centrifuga refrigerada.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Amostras lipêmicas, hemolisadas, ictéricas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

Recomenda-se o uso de uma ultra centrifuga para clarear amostras lipêmicas.

Tubos para coleta de sangue de diferentes fabricantes podem gerar valores discordantes, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo barreiras de gel ou física, ativadores de coagulação e/ou anticoagulantes. O PTH Intacto IMMULITE 2000 tem sido testado com tubos plásticos BD Vacutainer™ (tubos comuns para soro, SST e EDTA). Não foi possível testar com todas as variações possíveis dos tipos de tubos.

**Volume de amostra:** 50 µL de soro ou plasma.

**Estabilidade:** As amostras podem ser conservadas entre 2 – 8°C até 8 horas após a colheita. Para períodos mais longos, alíquotar e congelar até 2 meses a –20°C.

### Precauções

Para uso de diagnóstico in vitro.

**Reagentes:** Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as leis aplicáveis.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas obtidas de soro humano foram testadas, dando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto

apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

**Substrato quimioluminescente:** Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

**Água:** Utilize água destilada ou desionizada.

### **Materiais fornecidos**

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. As etiquetas no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

#### **Embalagem de pérolas de PTH Intacta (L2PP12)**

Com código de barras. Contém 200 pérolas revestidas com anticorpo monoclonal de murino anti-PTH, purificado por afinidade (44–84). Estável até a data de validade a 2–8°C.

**L2KPP2:** 1 embalagem.

**L2KPP6:** 3 embalagens.

#### **Embalagem de reagentes de PTH Intacta (L2PPA2)**

Com código de barras. Contém 11,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino de vitela) conjugada com anticorpo policlonal de cabra anti-PTH purificado por afinidade (1-34) em tampão, com conservante. Estável até a data de validade a 2–8°C.

**L2KPP2:** 1 embalagem.

**L2KPP6:** 3 embalagens.

Antes de utilizar, retire a parte superior da etiqueta na perfuração, sem danificar o código de barras. Remova o selo de alumínio do topo da embalagem, e encaixe a tampa deslizante nas rampas na tampa do reagente.

#### **Ajustes de PTH Intacta (LPHL, LPHH)**

Contém dois frascos (nível alto e baixo) de PTH intacta humana sintética e liofilizado numa matriz tamponada. Reconstitua cada frasco com **2,0 mL** de água destilada ou desionizada. Coloque imediatamente no gelo. Misture por inversão ou movimentos lentos. Use somente ajustes reconstituídos de fresco para cada doseamento. *Não congele.*

**L2KPP2:** 3 conjuntos.

**L2KPP6:** 5 conjuntos.

Antes de realizar qualquer ajuste, coloque as etiquetas de alíquota apropriadas (fornecidas com o "kit") em tubos de amostra de forma que os códigos de

barras possam ser lidos pelo dispositivo de leitura do aparelho.

### **Componentes do Dispositivo fornecidos separadamente**

#### **Diluyente de amostra para PTH Intacta (L2PHZ)**

Para diluição de amostras elevadas no aparelho. 25 mL de concentrado (pronto a usar) constituído por matriz tamponada livre de PTH. Estabilidade: 30 dias (após abrir) a 2–8°C ou 6 meses (aliquotado) a –20°C.

Etiquetas de código de barras são fornecidas para usar com o diluyente.

Antes de usar, colocar a etiqueta apropriada num tubo de teste (16 x 100 mm) de modo a que o código de barras possa ser lido pelo dispositivo de leitura do aparelho.

**L2PHZ:** 3 etiquetas

**L2SUBM:** Substrato quimioluminescente

**L2PWSM:** Solução de lavagem

**L2KPM:** Kit de limpeza do pipetador

**LRXT:** Tubos de reacção (descartáveis)

**L2ZT:** 250 Tubos de diluyente da amostra (16 x 100 mm)

**L2ZC:** 250 Tampas para tubos de diluyente da amostra

**LPHCM:** Controlo de dois níveis com PTH intactam, em matriz tamponizada.

Também necessário

Água destilada ou desionizada; tubos de amostra; controlos.

### **Procedimento do doseamento**

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE 2000.

Ver o manual do operador do Sistema IMMULITE 2000 para instruções sobre preparação, ajuste, doseamento e procedimentos de controlo de qualidade.

**Intervalo entre ajustes aconselhável:**

4 semanas.

**Amostras de controlo de qualidade:**

utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de PTH Intacta.

## Valores de Referência

Um estudo de faixa de referência foi realizado em amostras coincidentes de plasma EDTA e soro de 88 voluntários aparentemente saudáveis, coletadas em tubos plásticos e vacutainer. As amostras coincidentes foram analisadas pelos ensaios PTH Intacta IMMULITE/IMMULITE 1000 e PTH Intacta IMMULITE 2000. A análise dos dados não indicaram diferenças estatisticamente significantes entre as plataformas, no entanto, há uma nítida diferença nas faixas de referências entre soro e plasma com EDTA. As faixas de referências sugeridas por este estudo para o PTH Intacta IMMULITE/IMMULITE 1000 e PTH Intacta IMMULITE 2000 para ambos plasma EDTA e soro estão apresentadas na tabela seguinte.

	Média	Central de 95% Intervalo (pg/mL)
Plasma EDTA	38	16 – 87
Soro	30	11 – 67

A faixa de referência para o soro possui uma boa concordância com o estudo de faixa de referência, prévio, multilocal, realizados com o PTH Intacta IMMULITE 2000 em 255 amostras de soro de indivíduos aparentemente saudáveis. Esta população gerou uma mediana de 32 pg/mL. A faixa de referência sugerida por este estudo é de:

12 – 65 pg/mL (1,3 – 6,8 pmol/L).

Estes valores devem ser considerados apenas como diretrizes. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores.

## Limitações

O doseamento é para ser usado estritamente como um auxílio no diagnóstico diferencial de hipercalcemia e hipocalcemia, e *não* para o diagnóstico ou cuidado de doenças malignas.

Devido ao relacionamento fisiológico entre o cálcio em circulação e PTH, é importante interpretar os resultados de PTH levando em consideração os níveis de cálcio total ou ionizado.<sup>9,10</sup> A presença de nível de cálcio alto para normal acompanhado de PTH alto para normal (e

alternativamente, um nível de cálcio baixo para normal acompanhado de PTH baixo para normal) justifica investigação adicional; o nível de PTH, embora esteja dentro de limites normais, ainda pode estar inapropriadamente alto (ou baixo) em relação ao nível de cálcio em circulação.<sup>11</sup>

Índices da função renal, como por exemplo os níveis de creatinina; medição da albumina, como acessório da medição dos níveis de cálcio *total*;<sup>12-15</sup> e determinações de fósforo,<sup>14,16</sup> cloreto,<sup>12</sup> AMP cíclico nefrogênico<sup>14,17,18</sup> e possivelmente calcitonina,<sup>14</sup> também podem (em certas circunstâncias) auxiliar na interpretação dos resultados de cálcio e PTH. Também deve ser lembrado que hipercalcemia e hipocalcemia podem ser secundárias ao metabolismo desordenado de Vitamina D.<sup>19</sup>

Amostras lipêmicas, hemolisadas, ictericas ou totalmente contaminadas podem causar resultados errados.

Os anticorpos heterofílicos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anômalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

## Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance de doseamento. Os resultados são apresentados em pg/mL.

A não ser de outra maneira especificada, todos os dados da performance foram gerados em amostras de plasma EDTA.

**Factor de conversão:**

pg/ml × 0,1053 → pmol/L

**Calibração:** Até 2 500 pg/mL  
(263 pmol/L).

**Sensibilidade Analítica:** 3,0 pg/mL  
(0,3 pmol/L).

**Efeito Hook de Alta Dose:** Nenhum até 500 000 pg/mL (50 000 pmol/L).

**Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):** Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Consulte a tabela "Intraassay Precision" (Precisão Intra-ensaio))

**Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio):** Cálculos estatísticos foram efectuados para os resultados para 10 réplicas. (Consulte a tabela "Interassay Precision" (Precisão Inter-ensaio).)

**Linearidade:** As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

**Recuperação:** As amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções PTH Intacta (900, 3 600 e 7 200 pg/mL) antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

**Especificidade:** O doseamento é específico para PTH Intacta (Ver tabela de "Specificity".)

Os anticorpos usados no Dispositivo foram purificados por cromatografia de afinidade para alcançar especificidade para as regiões bem-definidas da molécula de PTH intacta. Os anticorpos imobilizados junto à fase sólida (esfera revestida) são específicos para a região terminal-C (44-84) e não apresentam reactividade cruzada detectável com a região terminal-N (1-34). De modo inverso, o anticorpo rotulado por enzima reconhece somente a região N-terminal, e não apresenta reactividade cruzada detectável com as regiões C-terminal ou centrais da molécula. Consequentemente, o doseamento, que requer ligamentos tanto por rotulamento por enzima como anticorpos de fase sólida, é capaz de reconhecer somente PTH intacta e fragmentos grandes de PTH que são tão compridos quanto a própria PTH. Um único fragmento, PTH 7-84, exhibe reacção

cruzada significativa (44,8%)<sup>20</sup> no ensaio do IMMULITE 2000 PTH.

**Bilirrubina:** A presença de bilirrubina conjugada e não conjugada em concentrações até 200 mg/L pode causar um decréscimo dos valores. (Ver tabela de "Bilirubin".)

**Hemolise:** A presença de hemoglobina em concentrações até 513 mg/dL pode causar um decréscimo dos valores. (Ver tabela de "Hemolysis".)

**Lipemia:** A presença de lípidos em concentrações até 3 000 mg/dL pode causar um decréscimo dos valores. (Ver tabela de "Lipemia".)

**Comparação de Métodos 1:** O doseamento foi comparado com um ensaio imunométrico por quimioluminescência (Kit A) em 79 amostras de soro. (Zona de trabalho: aproximadamente 3 – 1 300 pg/mL. Ver gráfico 1.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,90 (Kit A) – 6,9 pg/mL  
r = 0,904

Médias:  
224 pg/mL (IMMULITE 2000)  
255 pg/mL (Kit A)

**Comparação de Métodos 2:** O doseamento foi também comparado com o ensaio imunométrico por RIA (Kit B) em 99 amostras de soro. (Zona de trabalho: aproximadamente 3 – 1 300 pg/mL. Ver gráfico 2.) Regressão linear:

(IML 2000) = 0,98 (Kit B) + 5,5 pg/mL  
r = 0,889

Médias:  
237 pg/mL (IMMULITE 2000)  
237 pg/mL (Kit B)

## Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

O Sistema de Qualidade da Diagnostic Products Corporation está registado sob ISO 13485:2003.



Diagnostic Products Corporation  
Corporate Offices  
5210 Pacific Concourse Drive  
Los Angeles, CA 90045-6900  
USA

2005-12-30

PIL2KPP – 15



EC REP DPC Biermann GmbH  
61231 Bad Nauheim  
Germany  
+49 -6032-994-00