

Utilisation du dosage de *parathormone* *1-84 (PTH)* sur *Elecsys 2010* dans le suivi de l'insuffisance rénale chronique (IRC)

P. Billion, A. Evers
Laboratoire de Biologie,
Centre Hospitalier d'Annonay,
BP 119, 07103 Annonay cedex.

Dans le cadre du suivi biologique des patients insuffisants rénaux, en particulier hémodialysés, et eu égard aux complications osseuses plus fréquentes chez ces patients, le bilan phospho-calcique et le dosage de la PTH représentent des paramètres sensibles. Dans cet article, nous souhaitons faire part de notre expérience de mise en place du dosage de la PTH sur l'automate d'immunoanalyse Elecsys® qui équipe notre laboratoire.

Rôles de la PTH

La PTH est une hormone peptidique monocaténaire sécrétée par les glandes parathyroïdes dont le niveau de sécrétion répond à une exigence impérieuse de l'organisme de maintenir l'homéostasie de la calcémie ionisée.

La PTH agit par trois mécanismes essentiels (figure 1) :

- En augmentant la libération de calcium et de phosphore au niveau du tissu osseux,
- En augmentant au niveau du rein la réabsorption tubulaire distale du calcium et diminuant la réabsorption tubulaire proximale du phosphore,
- En stimulant la 1-alpha hydroxylase rénale, qui permet la transformation de la vitamine D (25-hydroxy vitamine D) en son métabolite le plus actif, la 1-25 dihydroxy vitamine D, dont le rôle est d'augmenter l'absorption intestinale du calcium et d'exercer un rétro-contrôle sur la sécrétion de PTH.

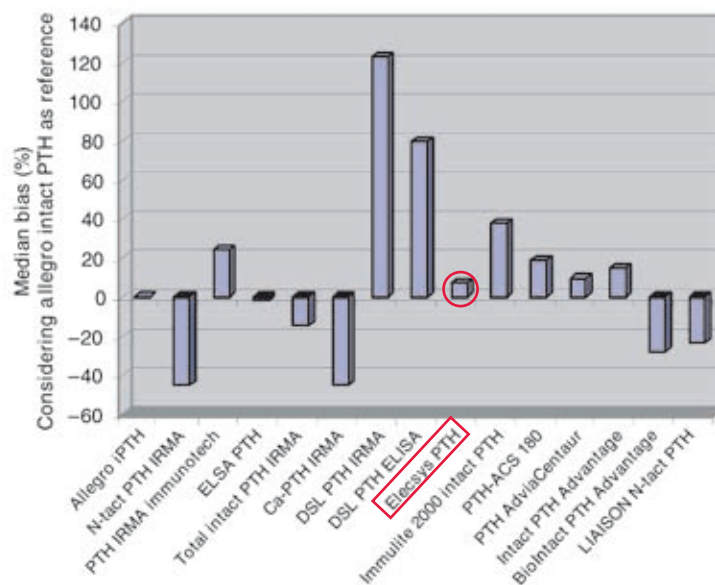
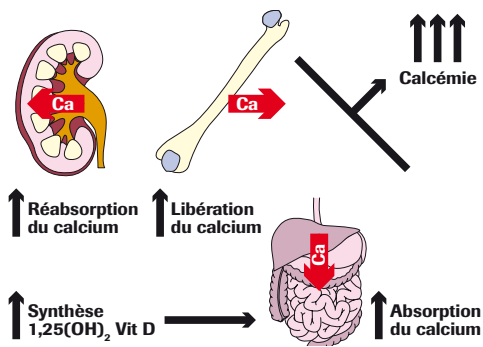


Figure A

Figure 1



Cas particulier de l'insuffisance rénale chronique (IRC)

Chez les patients dialysés, on observe une hyperphosphorémie puis une diminution de synthèse de 1-25 dihydroxy vitamine D due à la réduction de la masse néphronique. Ceci provoque une hypocalcémie et donc, en réaction, une synthèse accrue de PTH. Cette hyperparathyroïdie secondaire est de plus aggravée par une résistance à la PTH et une diminution du retrocontrôle par la 1-25 dihydroxy vitamine D.

Les anomalies osseuses associées à l'IRC sont regroupées sous le terme d'ostéodystrophies rénales (ODR). La PTH doit être dosée régulièrement pour évaluer le type d'ostéodystrophie rénale (ODR) éventuellement présent et pour adapter le traitement.

Deux types principaux d'ostéodystrophies rénales peuvent être observées :

- L'ostéodystrophie rénale avec augmentation du remodelage osseux due à l'hyperparathyroïdie secondaire, qui peut provoquer une ostéite fibrokystique, habituellement traitée par calcium et dérivés de la vitamine D, lesquels freinent la sécrétion de PTH.
- L'ostéodystrophie rénale avec bas remodelage osseux due à un défaut d'action de la PTH qui provoque une ostéopathie adynamique. Dans ce cas précis, il faut s'abstenir de traiter par calcium et vitamine D pour éviter des calcifications extra-osseuses et notamment des artères coronaires. Cette différenciation est essentielle, la principale cause

de mortalité des patients dialysés étant d'origine cardiaque par calcification des artères coronaires.

La PTH, une alternative à la biopsie

La méthode de référence pour apprécier l'ostéodystrophie est l'étude histomorphométrique sur biopsie osseuse après double marquage à la tétracycline. En raison de la lourdeur de cette méthode, non applicable à la routine, l'alternative unanimement pratiquée consiste à doser la PTH, généralement tous les trois mois. Les travaux princeps, basés sur la comparaison de données histomorphométriques sur biopsie osseuse avec les concentrations de PTH obtenues avec la technique Allegro® (NICHOLS), ont permis d'éditer des recommandations (Kidney-Dialysis Outcomes Quality Initiative ou K/DOQI émanant de la National Kidney Foundation) : soit le maintien de la PTH « intacte » des patients dialysés dans la

Étude française sur la variabilité inter-méthodes du dosage de la PTH

J-C Souberbielle¹, A Boutten², M-C Carlier³, D Chevenne⁴, G Coumaros⁵, E Lawson-Body^{1,6}, C Massart⁷, M Monge⁸, J Myara⁹, X Parent¹⁰, E Plouvier¹¹ et P Houillier¹², Working group on PTH and vitamin D, Société française de biologie clinique (SFBC).

(1) Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France ; (2) Hôpital Bichat, Paris, France ; (3) Centre hospitalier Lyon-Sud, Lyon, France ; (4) Hôpital Robert Debré, Paris, France ; (5) Centre hospitalier universitaire, Strasbourg, France ; (6) Hôpital de Gonesse, Gonesse, France ; (7) CHU Pontchaillou, Rennes, France ; (8) Laboratoire Pasteur CERBA, Saint-Ouen-l'Aumône, France ; (9) Hôpital Charles Foix, Ivry-sur-Seine, France ; (10) Centre hospitalier, Colmar, France ; (11) Centre hospitalier, Meaux, France ; (12) Hôpital européen Georges Pompidou, Université Paris-Descartes, INSERM U 652, Paris, France.

- Dans cette étude, 15 réactifs commerciaux (13 de 2^e génération et 2 de 3^e génération) ont été évalués pour doser la PTH de 47 pools de sérums de patients dialysés.
- Dans la mesure où les recommandations internationales² « Kidney - Dialysis Outcomes Quality Initiative » émanant de la National Kidney Foundation (NKF/K-DOQI) se fondent sur les

travaux princeps basés sur la comparaison des données histomorphométriques sur biopsie osseuse avec les concentrations de PTH intacte obtenues avec la technique Allegro® (NICHOLS), ce réactif est pris comme trousse de référence.

- Les représentations suivantes^{1,3} (figures A et B) montrent les concentrations respectives de chacun des 15 réactifs de PTH évalués pour trois taux de PTH dosés avec le réactif Allegro (150 ng/L, 300 ng/L, et 1 000 ng/L).

En conclusion

« La méthode utilisée pour doser la parathormone est d'une très grande importance clinique, économique et éthique. (...) La variabilité des dosages de la PTH peut expliquer l'augmentation du nombre des parathyroïdectomies chirurgicales observée aux États-Unis entre 1998 et 2002 » (Urena-Torres³).

« En conséquence de l'importante variabilité inter-méthodes de dosage de la PTH, la décision thérapeutique de maintenir la PTH des dialysés dans l'intervalle précis recommandé [150 à 300 ng/L] par le consensus NKF/ K-DOQI peut être dépendant du réactif utilisé, ce qui est inacceptable. » (Souberbielle et al.).

Parmi les trousse automatisées, la trousse Elecsys est celle qui se rapproche le plus de la trousse de référence dont la commercialisation a été stoppée.

BIBLIOGRAPHIE :

- (1) Souberbielle et al. , Kidney International, 2006 ; 70 : 345-350.
 (2) K/DOQI guidelines for the management of renal osteodystrophy, American Journal of Kidney Diseases, 2003, 42 (Suppl 3) : S1-S201.
 (3) Urena-Torres, Kidney International, 2006 ; 70 : 240-243.

Assay	PTH (ng/l)	PTH (ng/l)	PTH (ng/l)	Median bias (%)
Allegro intact PTH	150	300	1000	0
N-tact PTH IRMA	83	160	517	-44.9 (-68.0; -26.2)
PTH IRMA Immunotech	188	369	1216	23.9 (-6.1; 108.3)
ELISA-PTH	149	290	948	-1.6 (-24.3; 47.2)
Total intact PTH IRMA	134	262	857	-14.5 (-41.5; 23.5)
DSL PTH IRMA	323	638	2108	123.0 (53.1; 188.9)
DSL PTH ELISA	264	523	1734	79.6 (-8.0; 180.9)
Elecsys PTH	161	311	1011	7.3 (-13.8; 80.3)
Immulite 2000 intact PTH	212	410	1334	37.8 (3.8; 130.8)
PTH-ACS 180	185	374	1256	18.8 (-9.9; 69.4)
PTH AdviaCentaur	168	342	1154	9.5 (27.6; 55.6)
Intact PTH advantage	174	339	1109	14.6 (-10.4; 72.2)
LIAISON N-tact PTH	111	223	748	-23.4 (-68.2; -1.9)
Ca-PTH IRMA	84	165	543	-44.8 (-65.6; -22.8)
BioIntact PTH advantage	109	214	704	-27.6 (-53.0; 12.5)

Figure B

Comparaison du dosage de la PTH intacte par trousse Elecsys®
versus technique de référence Allegro® chez 95 patients dialysés.

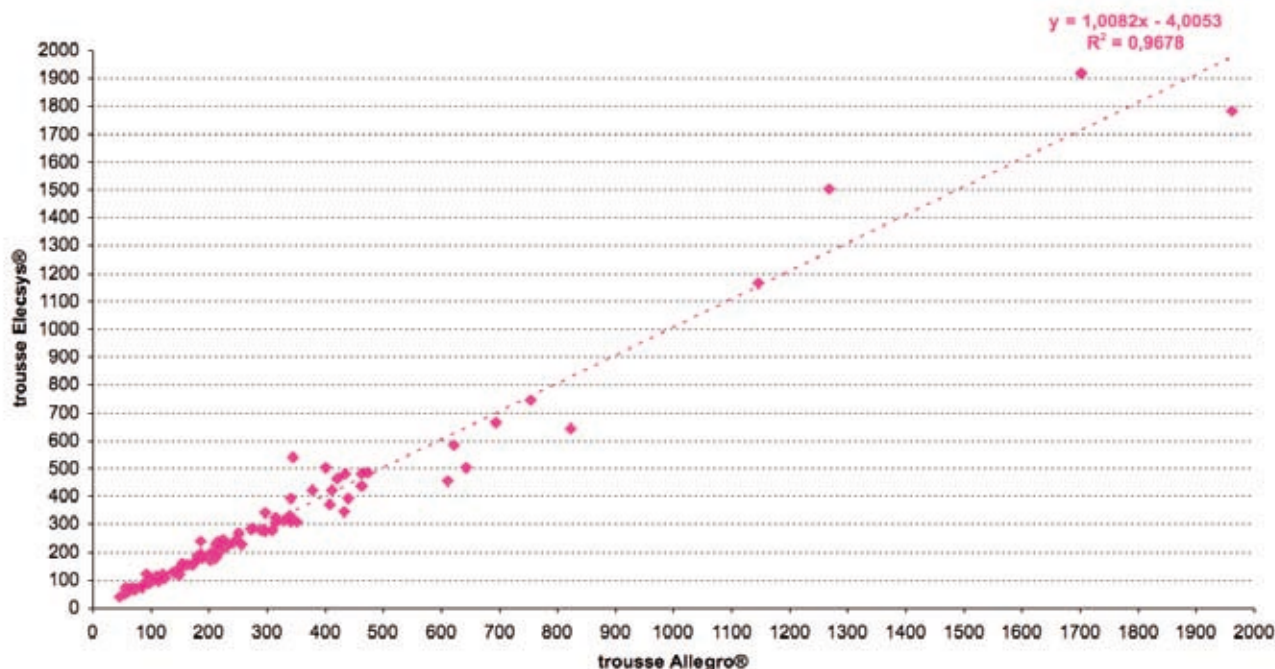


Figure 2

fourchette 150 à 300 pg/mL.

Au laboratoire, nous avons souhaité évaluer la trousse PTH intacte sur l'Elecsys® avant d'envisager son utilisation en routine dans le suivi de nos patients dialysés. Notre objectif prioritaire était donc de comparer cette trousse avec la trousse Allegro® pour savoir si nous pourrions suivre les recommandations K/DOQI.

Différents types d'immunodosages de PTH

Trois générations de dosage de la PTH, mais avec des dénominations plus ou moins justes sur le plan scientifique, sont apparues successivement sur le marché :

- PTH de 1^{ère} génération : techniques abandonnées
- PTH 1-84 de 2^e génération ou PTH dite « intacte », (exemples : Elecsys®

et Allegro®). Le défaut principal de ces techniques est de présenter des réactions croisées avec différents peptides et en particulier la PTH 7-84⁽²⁾.

- PTH de 3^e génération appelés Whole PTH ou PTH bio-intacte. Ces techniques visent à reconnaître spécifiquement la PTH 1-84. Toutefois, il est apparu qu'elles reconnaissent aussi une autre molécule appelée « amino-PTH » ou N-PTH. L'activité physiologique de la N-PTH n'est pas précisément connue, mais il s'avère que sa concentration peut atteindre des taux très importants dans certaines hyperparathyroïdies primitives ou dans les carcinomes parathyroïdiens⁽³⁾. En l'absence d'étude de corrélation avec des biopsies osseuses, il n'est pas possible de définir de valeurs de référence utilisables en routine chez le patient dialysé.

Caractéristique de la PTH 1-84 de Roche

Il s'agit d'un dosage de PTH intacte dit de 2^e génération. La méthode utilisée est de type sandwich, utilisant un couple d'anticorps monoclonaux, l'un reconnaissant la séquence 26-32, l'autre reconnaissant la séquence 55-64. Le dosage entièrement automatisé se fait en 18 minutes sur sérum ou plasma EDTA, sa sensibilité fonctionnelle est à 1,5 pg/ml et sa limite de linéarité est à 5 000 pg/ml. Les valeurs « normales » données par le fabricant sont : 15-65 pg/ml.

Essais du dosage de la PTH sur des sérum de patients dialysés avec le kit Roche

Les dosages de PTH avaient été jusqu'alors sous-traités à un laboratoire spécialisé utilisant la méthode Diasorin®.

Les premières comparaisons réalisées sur une petite série de sérums de patients dialysés ont d'emblée montré des discordances, dont certaines trop significatives à notre sens pour être passées sous silence. Ceci nous a conduit à solliciter l'expertise du Dr Jean-Claude Souberbielle (Hôpital Necker, laboratoire d'explorations fonctionnelles du Pr Friedlander).

Le Dr Souberbielle nous a adressé 95 échantillons de sérums congelés de patients dialysés. Les dosages de PTH ont été réalisés dans son laboratoire avec la technique Allegro® dans le processus normal de prescription des examens et n'ont pas nécessité de prélèvement d'échantillon supplémentaire.

Dans notre laboratoire, ces 95 sérums ont alors été dosés avec la technique Elecsys®. Les résultats obtenus ont ensuite été comparés entre les deux techniques.

Résultats

L'évaluation des résultats du dosage de la PTH par les deux méthodes Elecsys® Roche et Allegro® a concerné 95 sérums de patients dialysés, dont la corrélation obtenue est représentée sur la **figure 2**.

• Les résultats obtenus montrent la corrélation suivante :

Résultats (Elecsys®) = 1,0082, Résultats (Allegro®) - 4,0053 avec un coefficient de corrélation $r^2 = 0,9678$.

• Eu égard aux trois intervalles de mesure des échantillons dont le titre de PTH mesuré par la technique Allegro® (**tableau 1**) : (30 échantillons dont le titre est < 150 pg/mL ; 33 échantillons dont le titre est compris entre 150 et 300 pg/ml ; 32 échantillons dont le titre est > 300).

Aucune discordance dans la classification des échantillons entre ces trois intervalles de mesure selon la technique Allegro® n'a été retrouvée avec la technique Elecsys® (**tableau 1**).

		ELECSYS			
		PTH en pg/mL	PTH < 150	150 < PTH < 300	PTH > 300
ALLEGRO	PTH < 150		30	0	0
	150 < PTH < 300		0	33	0
	PTH > 300		0	0	32

Tableau 1 : classification des échantillons selon les bornes d'interprétation clinique et concordance entre les deux techniques.

Bilan de notre évaluation

- Les résultats de 95 dosages de PTH réalisés dans notre laboratoire avec la trousse Elecsys® sont très bien corrélés avec ceux de la méthode Allegro® dosés au laboratoire d'explorations fonctionnelles de l'hôpital Necker. Chaque échantillon peut être classé de la même façon avec les deux techniques dans chacun des trois intervalles définis ainsi par les néphrologues pour leur pertinence clinique.
- Nous considérons donc que les résultats de cette étude comparative sont suffisants pour nous permettre de mettre en routine la technique Elecsys® pour le suivi biologique des patients dialysés dans notre centre hospitalier, permettant à nos néphrologues d'interpréter les résultats de PTH selon les recommandations internationales actuelles.

Quelques réflexions sur la mise en place de la PTH en routine dans notre laboratoire après cette validation

- Nous dosons en routine la PTH Elecsys® sur Elecsys® 2010 depuis plus d'un an avec des résultats satisfaisants. Cette technique automatisée est, de plus, tout à fait intéressante par sa praticabilité et sa facilité d'utilisation.

- Nos néphrologues ont été tout à fait rassurés par l'étude comparative que nous avons réalisée et utilisent en toute confiance nos résultats pour le suivi des patients dialysés.
- De surcroît, la possibilité de disposer rapidement du dosage de PTH est une aide précieuse pour nos cliniciens dans l'exploration des désordres du bilan phosphocalcique.
- Ce type d'étude présente un intérêt particulier, car il porte sur un dosage d'une importance clinique considérable, alors qu'il souffre paradoxalement d'un manque cruel de standardisation.
- Ceci met également en évidence la nécessité du dialogue constant entre biologistes et cliniciens : avec des résultats inter-trousses réputés très disparates, et en l'absence d'étude préalable de corrélation, peut-on imaginer des cliniciens suivre des recommandations univoques ?
- Ce travail permet de valoriser le rôle d'expertise du laboratoire en interlocuteur privilégié des cliniciens.

Contact Roche Diagnostics :
frederic.eberle@roche.com

BIBLIOGRAPHIE :

- (1) K/DOKI guidelines. Am J Kidney Dis 2003 ; 42 (supl 3) S1-S201
(2) CANTOR T et al. Am Soc Nephrol 2003 ; 14 : 698
(3) D'AMOUR et al. Clin Chem 2003 ; 49 : 2037-2044