

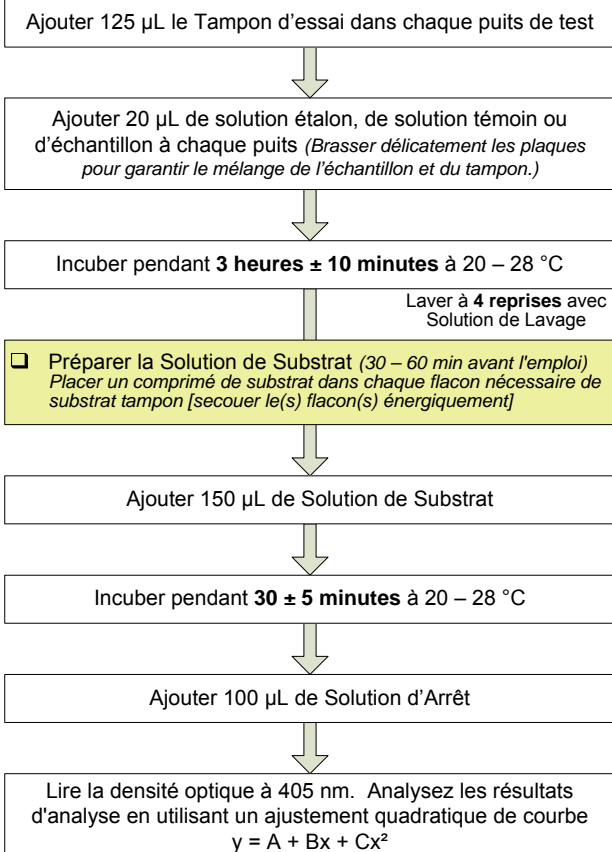
Un essai immunoenzymatique servant quantifier la phosphatase alcaline d'origine osseuse dans le sérum humain

MicroVue™ BAP EIA Sommaire

Préparation de réactif et d'échantillon

- Diluer Tampon de Lavage X10 1:10 avec de l'eau désionisée

Procédure de l'essai



APERÇU ET EXPLICATION

L'isoforme squelettique ou d'origine osseuse de la phosphatase alcaline est une glycoprotéine tétramérique qui se trouve à la surface cellulaire des ostéoblastes.¹ Les ostéoblastes sont les cellules responsables de la synthèse de la nouvelle matrice osseuse et de la minéralisation. La lumière n'a pas été complètement faite sur la fonction de la phosphatase alcaline osseuse, bien que son rôle en matière de minéralisation osseuse ait été confié.^{1,2,3}

L'os est perpétuellement sujet à un processus métabolique appelé remaniement.^{3,4} Ce dernier comprend la résorption osseuse, induite par l'action des ostéoclastes, et un processus de formation, la formation osseuse, induite par l'action des ostéoblastes.^{3,4} Le remaniement osseux est nécessaire au maintien et à la santé de l'os et il y est étroitement associé ; cela signifie que la résorption et la formation sont équilibrées.^{3,4} Dans les cas de métabolisme osseux anormaux ce processus est dissocié et, quand la résorption est supérieure à la formation, ceci entraîne une déminéralisation osseuse nette qui peut conduire à l'ostéoporose,^{3,4} ou au tissu osseux désordonné des lésions de la maladie de Paget.⁵ La mesure de marqueurs biochimiques spécifiques de ces événements de remaniement fournit des données analytiques concernant le degré de métabolisme osseux ou « vitesse de renouvellement ».^{3,4}

L'ostéoporose est une maladie métabolique des os qui se caractérise par un remaniement osseux anormal. C'est une maladie systémique du squelette caractérisée par une masse osseuse basse et une altération de la microarchitecture du tissu osseux, à l'origine d'une diminution de la résistance aux fractures.⁶ Le type d'ostéoporose le plus fréquent est celui qui touche les femmes ménopausées suite à la carence en œstrogènes induite par la cessation de la fonction ovarienne.³ Le rétablissement des taux d'œstrogènes précédant la ménopause par le traitement de substitution empêche la déminéralisation osseuse et l'ostéoporose.^{3,6} Les œstrogènes et une classe de composés connus sous le nom de bisphosphonates sont des traitements inhibiteurs de la résorption osseuse, qui peuvent être utilisés pour prévenir la déminéralisation osseuse ou traiter l'ostéoporose.^{3,6,7}

L'ostéoporose peut également résulter d'un volume maximal et inadéquat du tissu osseux atteint pendant les années de croissance, d'un déséquilibre du remaniement osseux dû à l'âge, présentant un excès de résorption significatif et un certain nombre de conditions cliniques et traitements qui induisent l'ostéopénie ou des déséquilibres du remaniement osseux.³ Ces derniers incluent les maladies endocriniennes telles que l'hypogonadisme, l'hyperthyroïdie, l'hyperparathyroïdisme, et l'hypercortisolisme ; l'insuffisance rénale ; les ostéosarcomes métastatiques ; les maladies gastrointestinales liées à la nutrition

APPLICATION

L'essai immunoenzymatique de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP fournit une mesure quantitative de l'activité sérique de la phosphatase alcaline d'origine osseuse et sert d'indicateur de l'activité ostéoblastique. La mesure de la phosphatase alcaline osseuse est destinée comme aide à la :

- Prise en charge de l'ostéoporose post-ménopausique et de la maladie de Paget ;
- Surveillance des femmes ménopausées sous traitement hormonal ou traitement par bisphosphonate ;
- Prédiction de la réaction osseuse au traitement hormonal chez les femmes ménopausées.

et au métabolisme minéral ; les maladies des tissus conjonctifs ; le myélome multiple ; l'immobilisation chronique, l'alcoolisme, l'usage du tabac, et le traitement chronique à l'héparine ou aux corticostéroïdes.³

La maladie osseuse de Paget est un trouble focal entraînant des douleurs et une déformation squelettique chez les patients souffrant des symptômes.⁵ Les lésions de la maladie de Paget sont caractérisées par une matrice osseuse d'une structure fortement anormale résultant de taux excessifs de l'activité de remaniement. Les lésions apparaissent principalement au niveau du crâne, de la colonne vertébrale, du bassin et des os longs, et elles peuvent entraîner des fractures et une détérioration neurologique.⁵ L'étiologie de la maladie de Paget est inconnue mais des hypothèses impliquant des facteurs génétiques et viraux sont probantes.⁵ On utilise actuellement les bisphosphonates et la calcitonine pour ramener le taux élevé d'activité biochimique à des taux normaux, ce qui permet la restauration de la structure osseuse normale.⁹

La phosphatase alcaline osseuse fournit, en tant que mesure quantitative d'un marqueur de la vitesse de renouvellement osseux, des informations utiles sur le remaniement osseux dans le cas de l'ostéoporose et de la maladie de Paget, et sur les changements induits par traitements inhibiteurs de la résorption osseuse sur l'évolution de la maladie.¹⁰⁻¹² Pour le dosage de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP, on a employé une technologie à base d'anticorps pour produire des anticorps monoclonaux démontrant la spécificité de la phosphatase alcaline osseuse.¹⁰ La spécificité de l'anticorps monoclonal utilisée dans l'essai permet une quantification simple, reproductible, pratique et directe de l'activité sérique de la phosphatase alcaline osseuse.

PRINCIPE DU PROCÉDÉ

La phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP est un essai immunoenzymatique sur plaque de microtitration employant un anticorps monoclonal anti-phosphatase alcaline osseuse, lequel est enduit sur la plaque pour capturer la phosphatase alcaline osseuse contenue dans l'échantillon. L'activité enzymatique de la phosphatase alcaline osseuse capturée est détectée à l'aide d'un substrat pNPP.

RÉACTIFS ET MATÉRIAUX FOURNIS

96 essais pour la phosphatase alcaline d'origine osseuse

L'EIA de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP contient les éléments suivants :

- A Solutions étalon de phosphatase alcaline osseuse A à F**
Articles 4395 à 4400 de 0,4 mL chacun
- B (A = 0, B = 2, C = 20, D = 50, E = 80, F = 140 U/L de phosphatase alcaline osseuse)**
- D** Phosphatase alcaline osseuse purifiée des cellules d'ostéosarcome SAOS-2 dans une solution tamponnée
- E** contenant du chlorure de magnésium, du sulfate de zinc, un agent de surface, une protéine-support, un colorant bleu, et de
- F** l'azoture de sodium (0,05 %) comme conservateur

L Solutions témoin à concentration faibles/élevées

Articles 4401, 4402 de 0,4 mL chacun

H Phosphatase alcaline osseuse purifiée des cellules d'ostéosarcome SAOS-2 dans une solution tamponnée contenant du chlorure de magnésium, du sulfate de zinc, un agent de surface, une protéine-support, un colorant bleu, et de l'azoture de sodium (0,05 %) comme conservateur

1 Plaques enduites Article 4660 12 chacun

Anticorps monoclonal de souris anti-phosphatase alcaline osseuse de type IgG purifié, absorbé par les puits de la microplaque

2 Solution d'arrêt Article 4702 15 mL

0,5N NaOH

3 Tampon de lavage X10 Article 4703 55 mL

Détergent non-ionique dans une solution tampon contenant de l'azoture de sodium (0,05 %) comme conservateur

4 Tampon d'essai Article 4403 27 mL

Solution tamponnée contenant du chlorure de magnésium, du sulfate de zinc, un agent de surface, et de l'azoture de sodium (0,05 %) comme conservateur

5 Substrat tampon Article 4404 3 x 10 mL

Solution de 2-amino-2-méthyl-1-propanol contenant du chlorure de magnésium HEDTA, du sulfate de zinc, et un azoture de sodium (0,05 %) comme conservateur

6 Substrat en comprimés Article 0012 3 x 20 mg

p-Nitrophényl phosphate

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES NON FOURNIS

- Micropipettes pour l'injection de 20 µL et 100 à 300 µL
- Éléments appropriés à la mesure de 100 à 300 mL de liquide
- Récipient pour dilution de tampon de lavage
- Eau dé-ionisée ou distillée
- Lecteur de plaque capable de mesurer la densité optique à $A_{405} > 2,0$
- Un logiciel avec ajustement des courbes à étalonnage quadratique

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

1. Pour diagnostic *in vitro*.
2. Traiter les prélèvements d'échantillons comme du matériel potentiellement nocif. Suivre les précautions standard lors de la manipulation du contenu de ce trousseau et de tous les échantillons de patients.
3. Éliminer les récipients et leur contenu inutilisés conformément aux dispositions réglementaires du gouvernement fédéral, de l'Etat et de la localité.
4. Utiliser les réactifs fournis intégralement avant la date de péremption indiquée sur l'étiquette de l'emballage.
5. Suivre les recommandations concernant la conservation des réactifs de l'essai.
6. Ne pas utiliser les plaques enduites si la poche est percée.
7. Tester chaque échantillon en double.
8. Porter un vêtement, des gants et un appareil de protection des yeux /du visage appropriés lors de la manipulation du contenu de ce trousseau.

9. Le NaOH 0,5N est considéré corrosif et peut provoquer une irritation de la peau. Ne pas ingérer. Éviter le contact avec la peau, les yeux ou les vêtements. En cas de contact, laver à l'eau. En cas d'ingestion, appeler un médecin.
10. L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur. Un contact accidentel ou une ingestion de tampons contenant de l'azoture de sodium peut provoquer une irritation de la peau, des yeux, ou de la bouche. Utiliser les tampons uniquement à des fins prévues et éviter le contact avec les acides. L'azoture de sodium peut réagir avec les conduites en plomb et en cuivre pour former des azides métalliques très explosifs. Lors de la mise au rebut, rincer à grande eau pour éviter une accumulation d'azoture.
11. Le tampon de substrat contient du 2-amino-2-méthyl-1-propanol et peut causer des irritations des yeux et/ou de la peau en cas de contact prolongé. Les zones ayant été en contact avec le produit doivent être rincées immédiatement à l'eau et au savon.
12. L'utilisation de pipettes multi-canaux ou de robots pipetteurs est recommandée pour assurer la distribution rapide des réactifs.
13. Pour une mesure exacte des échantillons, ajouter les échantillons et les solutions étalon avec précision. Pipetter avec soin, en utilisant uniquement un équipement étalonné.
14. Diluer les échantillons supérieurs à 140 U/L dans le tampon essai et tester à nouveau. Inclure le facteur de dilution dans le calcul final.
15. Cet essai peut être effectué avec n'importe quelle méthode de lavage validée.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Amener les réactifs et matériaux de l'essai à une température de 20 à 28 °C avant l'utilisation. Après avoir enlevé les réactifs et matériaux nécessaires, remettre les éléments inutilisés à une température de 2 à 8 °C.

Plaques enduites

Retirer le support des puits de la microplaque et le nombre nécessaire de plaques enduites de la poche (Se référer au tableau de la section *PROCÉDURE DE L'ESSAI*). S'assurer que la poche contenant toutes les plaques inutilisées est complètement fermée.

Tampon de lavage

Préparer la quantité nécessaire de tampon de lavage 1X (voir tableau) en diluant 10X le concentré de lavage à 1/10 avec de l'eau dé-ionisée. Conserver entre 20 et 28 °C. Utiliser le tampon de lavage 1X dans un délai de 21 jours de préparation.

Solution de substrat active

Préparer la solution de substrat active dans un délai d'une heure d'utilisation. Placer un comprimé de substrat dans chaque flacon nécessaire de substrat tampon à une température entre 20 et 28 °C (voir tableau). Attendre 30 à 60 minutes jusqu'à dissolution du(des) comprimé(s). Secouer le(s) flacon(s) énergiquement pour mélanger complètement. Jeter le reste de la solution de substrat active après utilisation.

CONSERVATION

Conserver le trousseau à une température de 2 à 8 °C. Ne pas congeler. Conserver les réactifs inutilisés à une température de 2 à 8 °C. Equilibrer les réactifs à 20 – 28 °C avant utilisation. Conserver le concentré de lavage 1X (dilué 10X) à 20 – 28 °C.

PRÉLÈVEMENT DE SPÉCIMENS ET CONSERVATION

Prélever le sérum à l'aide de la technique de ponction veineuse standard. Les spécimens doivent être prélevés sans anticoagulant de manière à éviter l'hémolyse. Attendre que le sang coagule et séparer le sérum par centrifugation. Le sérum peut être conservé pendant 5 jours entre 2 et 8 °C, à ≤ -40 °C pendant 12 mois, ou à ≤ -80 °C pendant 36 mois. Ne pas soumettre les échantillons à plus de 3 cycles de congélation/décongélation.

Le sérum « hors caillot », le sérum recueilli sur tube séparateur de sérum, le plasma recueilli sur héparine Na et le plasma recueilli sur héparine Li produisent des résultats essentiellement équivalents. Il est recommandé de ne pas préparer les échantillons de plasma à l'aide d'agents complexants tels que l'EDTA ou le citrate.

PROCÉDÉ DU DOSAGE

Lire la notice produit dans son intégralité avant de commencer l'essai.

Voir PREPARATION DES REACTIFS avant de poursuivre.

Déterminer la quantité de chaque réactif nécessaire pour le nombre de plaques à utiliser.

| | | | | |
|--|-----|-----|-----|-----|
| Quantité de plaques | 4 | 6 | 8 | 12 |
| Quantité d'échantillons (testés en double) | 8 | 16 | 24 | 40 |
| Substrat (flacon) | 1 | 1 | 2* | 2* |
| Tampon de lavage 1X (mL) | 100 | 150 | 200 | 300 |

*Lorsque plus d'un flacon ou d'une fiole est utilisé, associer les contenus et mélanger avant d'utiliser.

Incubation d'échantillon

1. Retirer le support des puits de la plaque de microtitration et le nombre nécessaire de plaques enduites de la poche (voir tableau) avant utilisation. S'assurer que la poche en aluminium contenant toutes les plaques inutilisées est complètement fermée.
2. Placer le nombre désiré de plaques enduites dans le support des puits. Libeller les plaques pour éviter de les confondre en cas de retrait accidentel du support des puits.
3. Ajouter 125 µL de tampon essai à chaque puits.
4. Ajouter 20 µL de solution étalon, de solution témoin ou d'échantillon à chaque puits. **Ne pas** mélanger au tampon essai en pipettant à plusieurs reprises. Cette étape doit être réalisée dans un délai de 30 minutes. **Brasser délicatement les plaques pour garantir le mélange de l'échantillon et du tampon.**
5. Incuber pendant 3 heures (± 10 minutes) à 20 – 28 °C.

6. Préparer la solution de substrat active dans un délai d'une heure d'utilisation. Placer un comprimé de substrat dans chaque flacon nécessaire de substrat tampon à 20 – 28 °C (voir tableau). Attendre 30 à 60 minutes jusqu'à dissolution du(des) comprimé(s). Secouer le(s) flacon(s) énergiquement pour mélanger complètement.

Etape du lavage

7. Préparer la quantité nécessaire de tampon de lavage 1X (voir tableau) en diluant 10X le tampon de lavage à 1/10 avec de l'eau dé-ionisée. Conserver entre 20 et 28 °C. Utiliser le tampon de lavage 1X dans les 21 jours de préparation.
8. Inverser/vider manuellement les plaques. Ajouter au moins 250 µL de tampon de lavage 1X à chaque puits, et inverser/vider manuellement les plaques. Répéter cette opération trois fois de plus pour arriver à un total de quatre lavages. Décanter énergiquement les plaques à sec sur des essuie-tout après le dernier lavage.

Incubation du substrat

9. Ajouter 150 µL de solution de substrat active à chaque puits. Jeter le reste de la solution de substrat active après utilisation.
10. Incuber pendant 30 minutes (± 5 minutes) à 20 – 28 °C.

Arrêt/Lecture

11. Ajouter 100 µL de solution d'arrêt à chaque puits. Ajouter la solution d'arrêt selon le même modèle et les mêmes intervalles de temps que pour l'ajout de la solution de substrat.
12. Lire la densité optique à 405 nm. S'assurer qu'aucune grosse bulle ne soit présente dans les puits et que les fonds de plaques soient propres. Les plaques doivent être lues dans les **15 minutes** suivant l'ajout de la solution d'arrêt.
13. Un logiciel de quantification avec une équation d'ajustement des courbes à étalonnage quadratique **doit** être utilisé pour analyser les résultats de la phosphatase alcaline osseuse de l'essai MicroVue BAP.

$$\text{Équation : } y = A + Bx + Cx^2$$

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le certificat d'analyse compris dans ce trousseau est spécialement conçu pour le lot et doit être utilisé pour vérifier que les résultats obtenus par votre laboratoire sont semblables à ceux obtenus par Quidel. Les valeurs de densité optique sont fournies, et elles doivent être utilisées comme référence uniquement. Les résultats obtenus par votre laboratoire peuvent être différents.

Les plages de contrôle de qualité sont fournies. Les valeurs de contrôle sont destinées à vérifier la validité du tracé et les résultats de l'échantillon. Chaque laboratoire devrait établir ces propres paramètres en matière de limites d'essais acceptables. Si les valeurs de contrôle ne sont PAS dans les limites d'acceptation de votre laboratoire, résultats de l'essai doivent être remis en question, et les prélèvements recommencés.

Si la densité optique de la solution étalon F de phosphatase alcaline MicroVue BAP est inférieure à 1,0, les résultats doivent être remis en question, et les prélèvements recommencés.

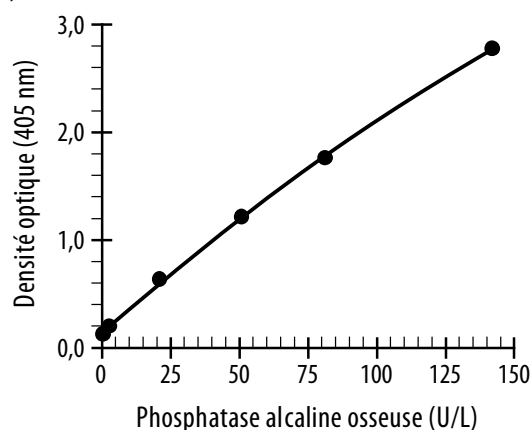
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats des prélèvements sont exprimés en U/L et **n'ont pas** besoin d'être corrigés pour la dilution (à moins que l'échantillon n'ait été dilué avant le test).

Dans le dosage de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP, 1 unité représente 1 µmol de pNPP hydrolysée par minute à 25 °C dans un tampon de 2-amino-2-méthyl-1-propanol.

Courbe de concordance représentative

Taux standard de phosphatase alcaline osseuse : 0, 2, 20, 50, 80, 140 U/L



LIMITATIONS DU PROCÉDÉ

Interférences HAMA

Certaines personnes ont des anticorps humains anti-souris (HAMA), qui peuvent provoquer des interférences dans les immunoessais employant des anticorps dérivés de souris. Il a notamment été signalé que les prélèvements de sérum de patients ayant subi un traitement ou des procédés de diagnostic comprenant l'infusion d'anticorps monoclonaux de souris peuvent être à l'origine de résultats erronés. Les résultats de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP de tels patients doivent par conséquent être utilisés uniquement en conjonction avec les résultats d'un autre procédé de diagnostic, et avec les informations provenant de l'évaluation clinique du patient.

Les prélèvements présentant des élévations marquées de l'activité de la phosphatase alcaline hépatique peuvent provoquer des résultats élevés aberrants dans le dosage de la phosphatase alcaline MicroVue BAP.

Les patients qui sont atteints de la maladie de Paget et présentent de faibles taux de maladie peuvent avoir des taux de phosphatase alcaline d'origine osseuse dans la plage de référence de la phosphatase alcaline MicroVue BAP.

VALEURS D'ÉCHANTILLON

Les plages de référence de la phosphatase alcaline ont été établies pour des hommes normaux âgés de plus de 25 ans (n = 126), des femmes non ménopausées normales âgées de 25 à 44 ans (n = 178), et des femmes ménopausées normales (n = 107). Dans l'optique d'établir des plages de référence, les sujets normaux furent définis comme:

- Fondamentalement sains, sans trouble osseux, endocrinien, ou chronique
- Cycles menstruels réguliers (femmes non ménopausées)
- Pas enceinte ou allaitant (femmes)
- Ne prenant actuellement aucun médicament connu pour son influence sur le métabolisme.

Les valeurs peuvent être influencées par des facteurs tels qu'une faible production d'œstrogènes, un faible apport en calcium ou une activité physique limitée.⁸ La carence en œstrogènes chez la femme ménopausée peut entraîner une vitesse élevée de renouvellement osseux.^{3,4} Chaque laboratoire devrait établir sa propre plage de référence standard. Les plages sont exprimées en tant qu'intervalles de référence non paramétriques (IC de 90 %).

| | Age (An) | | Plage (U/L) | Moyenne |
|--------|----------|-----------------|-------------|---------|
| Femmes | 25 - 44 | non ménopausées | 11,6 – 29,6 | 18,3 |
| Femmes | ≥ 45 | ménopausées | 14,2 – 42,7 | 25,0 |
| Hommes | ≥ 25 | | 15,0 – 41,3 | 23,2 |

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Spécifications Anticorps

L'anticorps de la phosphatase alcaline d'origine osseuse fait preuve d'affinités spécifiques importantes pour l'isoforme de la phosphatase alcaline d'origine osseuse, d'une réactivité croisée faible envers la forme hépatique de la phosphatase alcaline, et d'une liaison négligeable des isoenzymes du placenta et des intestins.

| Isoenzyme AP | % de réactivité |
|--------------|-----------------|
| Os | 100 |
| Foie | 3 – 8 |
| Placenta | 0 |
| Intestins | 0,4 |

Sensibilité

La limite de détection minimale du dosage de la phosphatase alcaline MicroVue BAP, déterminée par la limite supérieure à 3 SD d'un essai de précision utilisant zéro comme étalon, est de 0,7 U/L.

Récupération - Récupération maximale

La récupération maximale a été déterminée par l'ajout d'une quantité connue de phosphatase alcaline osseuse purifiée aux prélèvements de sérum à différents niveaux de phosphatase alcaline osseuse d'origine endogène. Les résultats types sont fournis après avoir surchargé les prélèvements de sérum avec des concentrations faibles, moyennes, et élevées de phosphatase alcaline osseuse et avoir fait des essais en trois exemplaires.

| Endogène (U/L) | Ajouté (U/L) | Observé (U/L) | Récupération (%) |
|----------------|--------------|---------------|------------------|
| 13,4 | 15,7 | 29,1 | 99 |
| 17,6 | 37,5 | 55,3 | 99 |
| 27,2 | 57,2 | 88,1 | 106 |

Récupération - Linéarité

La linéarité a été déterminée en diluant des échantillons en série et en comparant les valeurs observées avec les valeurs anticipées. Des résultats types sont fournis ci-dessous.

| Echantillon | Facteur de dilution | Observé (U/L) | Anticipé (U/L) | Récupération (%) |
|-------------|---------------------|---------------|----------------|------------------|
| 1 | pur | 108,5 | - | - |
| | 1:2 | 51,1 | 54,2 | 94 |
| | 1:4 | 25,8 | 27,1 | 99 |
| | 1:6 | 18,0 | 18,1 | 99 |
| 2 | pur | 39,1 | - | - |
| | 1:2 | 20,1 | 19,5 | 103 |
| | 1:4 | 10,3 | 9,8 | 105 |
| | 1:6 | 6,7 | 6,5 | 103 |
| 3 | pur | 58,4 | - | - |
| | 1:2 | 29,9 | 29,2 | 102 |
| | 1:4 | 15,7 | 14,6 | 108 |
| | 1:6 | 9,7 | 9,7 | 100 |

PRÉCISION

En cours de phase, on a déterminé la précision en testant un minimum de 21 répliqués de 3 prélèvements sur 3 plaques provenant de chacun des 3 lots de kit (soit 9 plaques au total). Entre les phases, la précision a été établie par l'analyse de 3 prélèvements sur 6 plaques différentes provenant de chacun des 3 lots de kit (soit 18 plaques au total). Les résultats types sont fournis ci-dessous.

| Phosphatase alcaline osseuse (U/L de phosphatase alcaline osseuse) | En cours de phase ¹ CV% | Entre les phases ² CV% |
|--|------------------------------------|-----------------------------------|
| 12 | 5,8 | 5,2 |
| 35 | 3,9 | 7,6 |
| 100 | 5,2 | 5,0 |

¹ n = 21

² n = 6 phases

SUBSTANCES INTERFÉRANTES

Les substances suivantes furent testées aux concentrations spécifiées, et se sont révélées ne pas interférer avec l'essai.

| Substance | Concentration |
|-----------------|---------------|
| Hémoglobine | 500 mg/dl |
| Bilirubine | 25 mg/dl |
| Triglycérides | 1420 mg/dl |
| Protéine totale | 6,0 g/dl † |
| Protéine totale | 15,6 g/dl † |
| Protéine totale | 6,0 g/dl ‡ |
| Protéine totale | 15,6 g/dl ‡ |

† Protéine avec de l'eau

‡ Protéine avec phosphatase alcaline osseuse (concentration en phosphatase alcaline osseuse = 43,6 U/L)

Interférences médicamenteuses

Diverses concentrations de médicaments ont été ajoutées à trois différents pools de sérum contenant environ 35, 70, et 105 U/L de phosphatase alcaline osseuse, testés en trois exemplaires. Les médicaments et les concentrations les plus élevées testées étaient :

| Substance | Concentration la plus élevée |
|-----------------------------------|------------------------------|
| Etidronate | 350 µg/ml |
| œstrogène | 100 µg/ml |
| Ibuprofène | 150 µg/ml |
| Acetaminophène | 350 µg/ml |
| Aspirin | 350 µg/ml |
| Calcitonin - Humaine | 80 µg/ml |
| Calcitonin - Saumon | 80 µg/ml |
| Calcium | 500 µg/ml |
| Norethindrone / mélange d'Ethinyl | 3 mg/ml |
| Oestradiol (contraceptif oral) | |
| Vitamine D | 400 IU/ml |

Exactitude

Des essais comparatifs ont été effectués pour évaluer les corrélations entre la mesure de la phosphatase alcaline d'origine osseuse obtenue par le dosage de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP et les résultats obtenus à l'aide des trois méthodes actuellement commercialisées pour la mesure de la phosphatase alcaline totale (PAT) ou la phosphatase alcaline osseuse. Les essais ont été menés dans un centre de recherches clinique indépendant, à l'aide du sérum de 114 patients atteints de la maladie de Paget et de 464 sujets sains. La première méthode comparative était une technique colorimétrique pour la mesure de la PAT. Le coefficient de corrélation (r) obtenu entre cette méthode colorimétrique et le dosage de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP était de 0,99. La deuxième méthode comparative était une méthode par électrophorèse pour la détermination des taux d'isoenzymes de la phosphatase alcaline osseuse (r = 0,99). La troisième méthode comparative était un dosage immunoradiométrique pour la mesure de la phosphatase alcaline osseuse (r = 0,99). Sur les 114 patients diagnostiqués atteints de la maladie de Paget, 101 patients avaient des valeurs supérieures à la limite maximale des plages de référence du dosage de phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP. Treize patients avaient des valeurs inférieures à la limite maximale des plages de référence

ESSAIS CLINIQUES

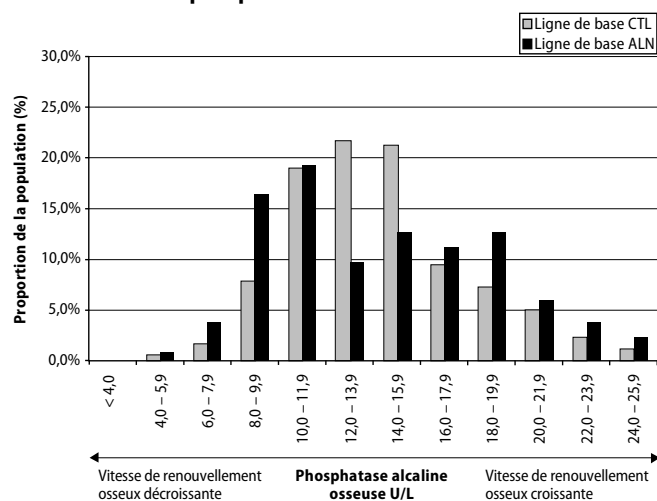
Utilisation de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP pour la surveillance de l'efficacité du traitement par inhibiteurs de la résorption osseuse dans le cas de l'ostéoporose

Un essai randomisé multicentrique a prouvé la fiabilité et l'efficacité du dosage de phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP en matière de surveillance des changements de concentrations sériques de la phosphatase alcaline osseuse associée au traitement par aminobisphosphonates, des inhibiteurs de la résorption osseuse (alendronate). Les sujets, tirés d'un essai de plus grande envergure sur l'efficacité de l'alendronate dans le traitement de l'ostéoporose, étaient des femmes ménopausées, âgées de 45 à 84 ans (en moyenne de

64 ± 7 ans), chez lesquelles on a détecté l'ostéoporose (en se basant sur un tableau clinique ou une densité minérale osseuse [DMO] de la colonne lombaire initiale, plus de 2,5 écarts type en dessous de la moyenne pour les femmes d'âge mûr non ménopausées). A la ligne de base, on a randomisé les sujets admissibles, et administré, soit 10 mg d'alendronate et 500 mg de calcium par jour (ALN), soit un placebo et 500 mg de calcium pour jour (CTL). Les échantillons de sérum furent obtenus de tous les sujets à la ligne de base, à 3, 6 et 12 mois.

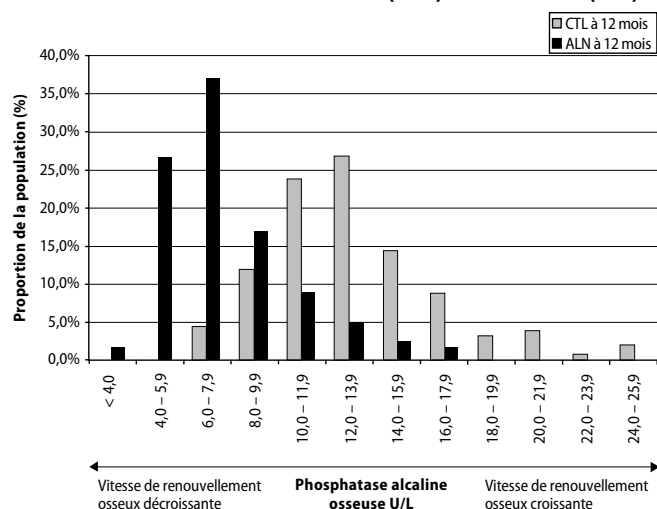
La moyenne (± 1 écart type) initiale de base de la concentration en phosphatase alcaline osseuse (14,6 ± 5,4 vs. 14,6 ± 4,6, p = 0,900) et la DMO de la colonne lombaire (0,74 ± 0,10 vs. 0,75 ± 0,09, p = 0,751) avaient des valeurs d'ALN et de CTL semblables. La répartition des valeurs de départ de la phosphatase alcaline osseuse dans l'ALN et CTL est illustrée dans le schéma ci-après, proportionnellement avec la population étudiée.

Répartition des taux de départ de la phosphatase alcaline osseuse



La phosphatase alcaline osseuse était nettement plus faible pour l'ALN que pour le CTL à 3 (9,6 ± 3,5 vs. 13,4 ± 4,0, p < 0,00001), 6 (8,0 ± 3,0 vs. 13,2 ± 3,8, p < 0,00001), et 12 mois (7,8 ± 2,6 vs. 13,3 ± 3,9, p < 0,00001). La répartition des valeurs de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois dans les groupes ALN et CTL est illustrée dans le schéma ci-après.

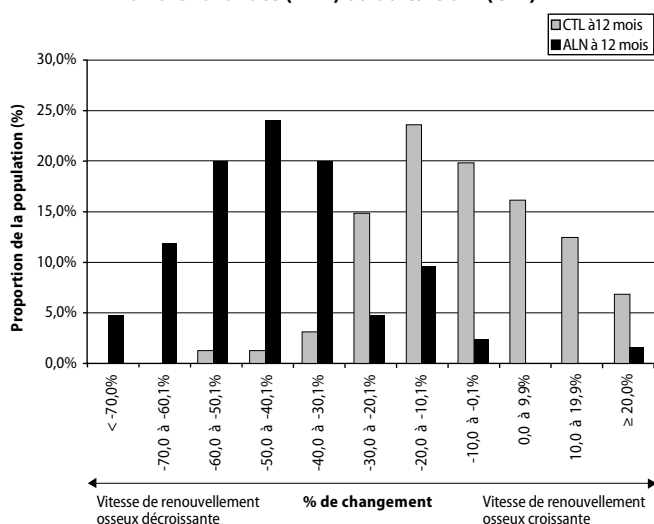
Répartition des taux de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois Traitement à l'alendronate (ALN) ou au calcium (CTL)



La concentration moyenne (± 1 SD) chez les sujets sous CTL a légèrement diminué de $-5,4\%$ ($\pm 19,1\%$) par rapport à la valeur initiale de base à 12 mois ($p = 0,00004$), ce qui peut être révélateur de l'effet limité de préservation de l'os par le calcium.¹³

Les concentrations moyennes de phosphatase alcaline osseuse chez les sujet sous ALN ont diminué de $30,5 \pm 24,6\%$ à 3 mois, de $42,8 \pm 17,3\%$ à 6 mois et de $42,2 \pm 19,2\%$ à 12 mois. Les sujets du groupe de l'ALN étaient plus susceptibles que les sujets du CTL de faire preuve de pertes en phosphatase alcaline osseuse supérieures au pourcentage de changement minimum¹⁴, avec une diminution de $\geq 25\%$ pour $68,5\%$, $83,9\%$, et $86,1\%$ des personnes sous ALN et $9,5\%$, $15,9\%$ et $9,0\%$ des personnes sous CTL, à 3, 6 et 12 mois. La répartition du pourcentage de changement des valeurs de la phosphatase alcaline osseuse par rapport à la ligne de base après 12 mois dans les groupes ALN et CTL est illustrée dans le schéma ci-après.

Répartition du pourcentage de changement des taux de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois traitement à l'alendronate (ALN) ou au calcium (CTL)



A 12 mois, la DMO de la colonne lombaire des sujets du groupe ALN avait augmenté par rapport au groupe CTL ($p < 0,00001$), comme l'indique le tableau suivant.

Changements en DMO de la colonne lombaire (moyenne \pm écart type)

| | n | Ligne de base (g/cm ²) | 12 mois (g/cm ²) | Δ (%) |
|-----|-----|------------------------------------|------------------------------|----------------|
| CTL | 159 | $0,75 \pm 0,09$ | $0,74 \pm 0,09$ | $-0,6 \pm 3,4$ |
| ALN | 121 | $0,74 \pm 0,10$ | $0,79 \pm 0,10$ | $5,5 \pm 4,1$ |

Ces résultats indiquent que le dosage de phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP est fiable et efficace pour la surveillance de l'effet du traitement par inhibiteurs de la résorption de l'aminobisphosphonate (alendronate) parmi les sujets diagnostiqués souffrant d'ostéoporse.

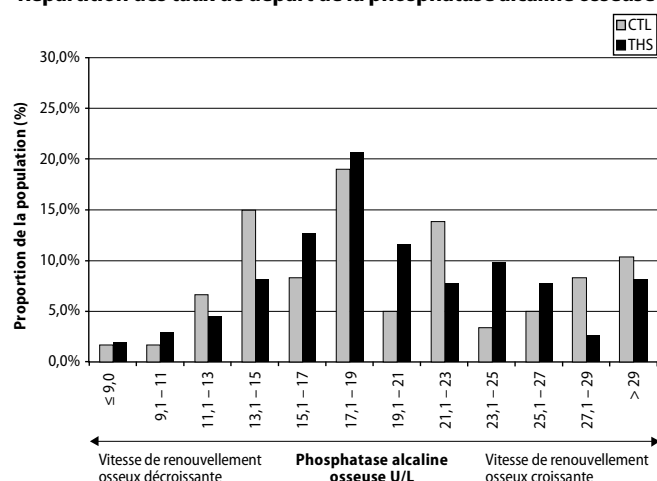
Utilisation de la phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP pour la surveillance du traitement hormonal par inhibiteurs de la résorption osseuse et prédiction de la réaction osseuse (densité minérale osseuse) chez les femmes ménopausées

Traitement de surveillance :

Un essai randomisé multicentrique a prouvé la fiabilité et l'efficacité du dosage de phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP en matière de surveillance des changements des concentrations sériques de la phosphatase alcaline osseuse associée au traitement par œstrogènes/ progestatifs, des inhibiteurs de la résorption osseuse. L'augmentation de la vitesse de renouvellement osseux et la déminéralisation importante sont souvent associées à la carence en œstrogènes suivant la ménopause. La substitution d'œstrogènes s'est révélée accroître considérablement la vitesse de renouvellement osseux et protéger la masse osseuse existante.^{3,6} Les sujets étaient des femmes ménopausées, âgées de 45 à 64 ans (en moyenne de 56 ± 4 ans), qui avaient subi une ménopause naturelle ou chirurgicale au cours des 10 dernières années. A la ligne de base, les sujets admissibles ont été randomisés, soit dans un groupe de traitement actif (THS) : Premarin® (0,625 mg par jour) avec un progestatif placebo, Premarin® (0,625 mg par jour) et un progestatif actif (Provera® 2,5 mg/jour en continu, Provera® 10 mg/jour en alternance, ou une progestérone micronisée 200 mg/jour en alternance) ; soit dans le groupe témoin (CTL) : œstrogène placebo et progestatif placebo. Les échantillons sérum furent obtenus de tous les sujets à la ligne de base et à 12 mois.

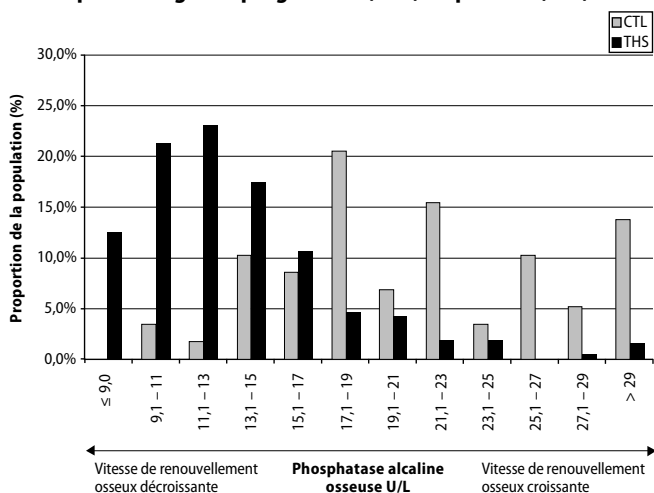
La moyenne (± 1 écart type) initiale de base de la concentration en phosphatase alcaline osseuse ($20,7 \pm 7,6$ vs. $20,3 \pm 6,8$ U/L, $p = 0,704$) et la DMO de la colonne lombaire ($0,97 \pm 0,17$ vs. $0,97 \pm 0,15$ g/cm², $p = 0,970$) étaient semblables pour THS et CTL. La répartition des valeurs de départ de la phosphatase alcaline osseuse dans le THS et CTL est illustrée dans le schéma suivant, proportionnellement à la population étudiée.

Répartition des taux de départ de la phosphatase alcaline osseuse



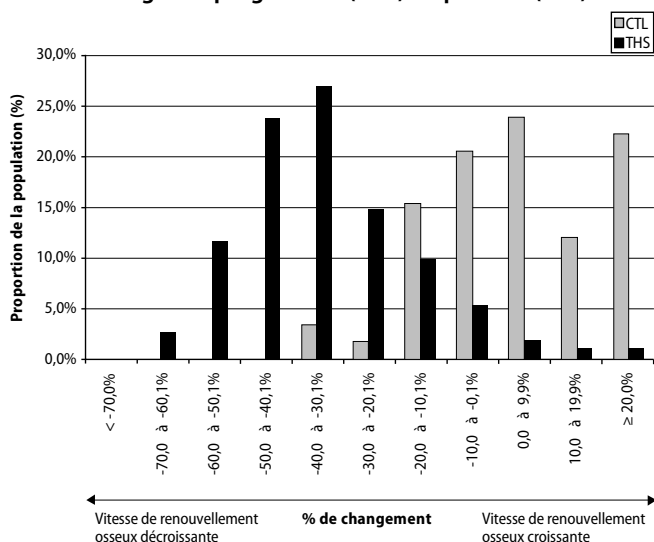
La phosphatase alcaline osseuse était nettement inférieure pour le THS que le CTL à 12 mois ($13,3 \pm 5,0$ vs. $21,9 \pm 7,9$ U/L, $p < 0,00001$). La répartition des valeurs de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois dans les groupes THS et CTL est illustrée dans le schéma suivant.

Répartition des taux de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois Traitement par oestrogènes/progestatifs (THS) ou placebo (CTL)



La concentration moyenne (\pm 1SD) en phosphatase alcaline osseuse chez les sujets sous CTL a légèrement augmenté de + 9,8 % (\pm 33,2 %) par rapport à la valeur initiale de base à 12 mois ($p = 0,08$), alors que les concentrations chez les sujets du groupe THS ont diminué de - 32,4 (\pm 21,5 %) par rapport à la ligne de base à 12 mois ($p = 0,00001$). Les sujets du groupe THS étaient plus susceptibles que les sujets CTL de faire preuve de pertes en phosphatase alcaline osseuse supérieures au pourcentage de changement minimum,¹² avec une diminution ≥ 25 % de 73,3 %, des personnes sous THS et de 3,4 % des personnes sous CTL à 12 mois. La répartition du pourcentage de changement des valeurs de la phosphatase alcaline osseuse par rapport à la ligne de base après 12 mois dans les groupes THS et CTL est illustrée dans le schéma ci-après.

Répartition du pourcentage de changement des taux de phosphatase alcaline osseuse après 12 mois traitement par oestrogènes/progestatifs (THS) ou placebo (CTL)



A 12 mois, la DMO de la colonne lombaire des sujets du groupe ALN avait augmenté par rapport au groupe CTL ($p < 0,00001$), comme l'indique le tableau suivant.

Changements en DMO de la colonne lombaire (moyenne \pm écart type)

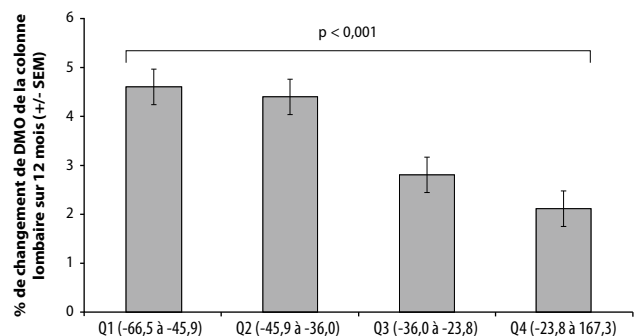
| | n | Ligne de base (g/cm ²) | 12 mois (g/cm ²) | Δ (%) |
|-----|-----|------------------------------------|------------------------------|----------------|
| CTL | 58 | 0,97 \pm 0,17 | 0,95 \pm 0,16 | -1,6 \pm 2,8 |
| THS | 262 | 0,97 \pm 0,15 | 1,00 \pm 0,15 | +3,5 \pm 2,8 |

Ces résultats indiquent que le dosage de phosphatase alcaline osseuse MicroVue BAP est fiable et efficace pour la surveillance de l'effet inhibiteur de la résorption du traitement hormonal de substitution chez les femmes ménopausées.

Prédiction de la réaction osseuse :

Le schéma ci-après illustre la diminution en % des valeurs de la phosphatase alcaline osseuse par rapport à la ligne de base à 12 mois par quartile pour le groupe traité par THS. Sujets du quartile le plus élevé (Q1 : diminution en % la plus forte) ont fait preuve de la plus forte augmentation en DMO de la colonne lombaire en réaction au THS.

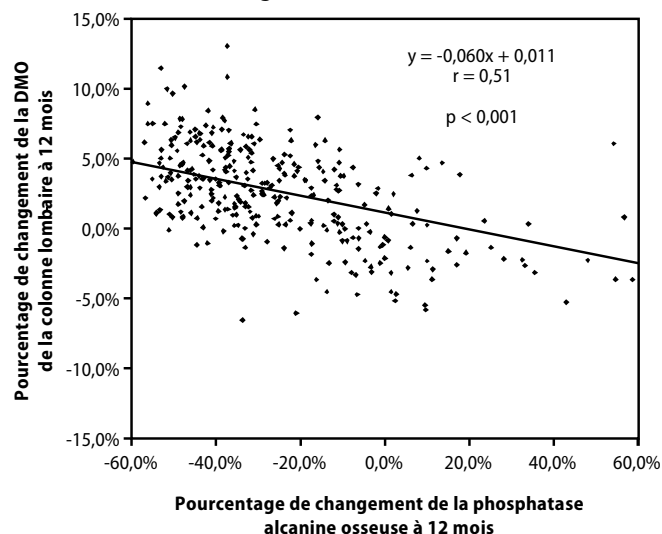
Groupe THS - Valeurs de % de changement de la phosphatase alcaline osseuse à 12 mois stratifiée par % de changement quartile et correspondant de la DMO de la colonne lombaire à 12 mois



Quartiles par % de changement de la phosphatase alcaline osseuse sur 12 mois

Le schéma suivant fournit une analyse de régression linéaire ($y = -0,060x + 0,011$, $r = -0,51$, $p < 0,001$) du pourcentage de changement par rapport à la ligne de base à 12 mois de phosphatase alcaline osseuse et du pourcentage de changement par rapport à la ligne de base à 12 mois de BMD pour tous les sujets de l'essai (sous placebo et traitement).

Essai de THS - Régression linéaire du % de changement dans DMO de la colonne lombaire et phosphatase alcaline osseuse, de la ligne de base à 12 mois



Le tableau d'étude de sensibilité aux hypothèses a démontré que l'augmentation de $\geq 25\%$ de phosphatase alcaline osseuse à 12 mois était nettement associée ($p < 0,0001$) à une réaction osseuse positive au THS (gain de BMD) à 12 mois. Les intervalles de confiance binomiaux (approximation de deuxième ordre) de sensibilité et spécificité de 85 % relatifs à l'utilisation d'une augmentation de 25 % de la phosphatase alcaline pour prédire une réaction au THS sont :

Sensibilité = 77 % (IC de 95 %, 75 %, 82 %)

Spécificité = 61 % (IC de 95 %, 41 %, 78 %).

Ces résultats indiquent que le % de changement de la concentration en phosphatase alcaline osseuse peut être utilisé pour prédire le degré de réaction osseuse (BMD) au traitement THS.

ASSISTANCE

Pour des services en dehors des Etats-Unis, veuillez contacter votre distributeur local. Vous trouverez les informations sur Quidel, ses produits et ses distributeurs sur le site www.quidel.com.

RÉFÉRENCES

1. Price CP. Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation. *Ann.Clin.Biochem.* 1993;30:355-372.
2. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr.Rev.* 1994;15:439-461.
3. Riggs BL. Overview of osteoporosis. *West.J.Med.* 1991;154:63-77.
4. Garnero P, Delmas PD. Clinical usefulness of markers of bone remodeling in osteoporosis. In: Meunier PJ (ed.). *Osteoporosis: Diagnosis and management*. London: Martin Dunitz, 1998:79-101.
5. Singer FR, Roodman GD. Paget's disease of bone. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (ed.). *Principles of bone biology*. San Diego: Academic Press, 1996:969-977.
6. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int.* 1997;7:1-6.
7. Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. *N.Engl.J.Med.* 1995;333:1437-1443.
8. Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann.Clin.Biochem.* 1995;32:244-260.
9. Meunier PJ, Vignot E. Therapeutic strategy in Paget's disease of bone. *Bone* 1995;17(Suppl.):489S-491S.
10. Gomez B, Jr., Ardakani S, Ju J, et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin.Chem.* 1995;41:1560-1566.
11. Pedrazzoni M, Alfano FS, Girasole G, et al. Clinical observations with a new specific assay for bone alkaline phosphatase: A cross-sectional study in osteoporotic and pagetic subjects and a longitudinal evaluation of the response to ovariectomy, estrogens, and bisphosphonates. *Calcif.Tissue Int.* 1996;59:334-338.
12. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1994;79:1693-1700.
13. Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD, Sharpe SJ. Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Am.J.Med.* 1995;98:331-335.
14. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures? [Editorial] *Clin.Chem.* 1994;40:1671-1673.
15. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

GLOSSAIRE



Consulter les instructions d'utilisation au CDROM



Application

REF 8012 – **MICROVUE** BAP EIA Kit
Bone Health



Quidel Corporation | 10165 McKellar Court
San Diego, CA 92121 USA | www.quidel.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany