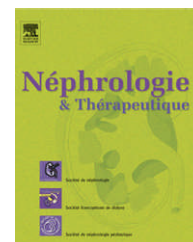




Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
  
www.em-consulte.com



## ARTICLE ORIGINAL

# Conservation du tube primaire sur le site de dialyse en vue du dosage différé de la PTH : quels tubes ? Quelle température ?

## Delayed measurement of PTH in patients with CKD: Storage of the primary tube in the dialysis unit, which temperature? Which kind of tube?

Xavier Parent <sup>a,\*</sup>, Farideh Alenabi <sup>b</sup>, Pierre Brignon <sup>b</sup>, Jean-Claude Souberbielle <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Service de biochimie, hôpital Pasteur, avenue de la Liberté, 68024 Colmar cedex, France

<sup>b</sup> Service de néphrologie et hémodialyse, hôpital Pasteur, 68024 Colmar cedex, France

<sup>c</sup> Laboratoire d'exploration fonctionnelle, hôpital Necker, 149, rue de Sèvres, 75743 Paris cedex 15, France

Reçu le 21 décembre 2007 ; accepté le 19 avril 2008

### MOTS CLÉS

Parathormone ;  
Conservation ;  
Tube primaire ;  
Conditions  
préanalytiques

**Résumé** Le dosage de l'hormone parathyroïdienne (parathormone [PTH]) est essentiel à l'évaluation biologique du métabolisme phosphocalcique pour la prévention et le traitement de l'ostéodystrophie chez le patient insuffisant rénal chronique. Différents travaux ont souligné la variabilité des dosages de PTH selon la trousse utilisée. De la même façon, la connaissance des conditions préanalytiques (tube de prélèvement, mode de conservation) et de leurs conséquences sur le dosage est indispensable avant confrontation aux cibles des K/DOQI. Dans la perspective d'une unité de dialyse ne pouvant acheminer rapidement au laboratoire les tubes prélevés, nous avons évalué la stabilité de la concentration en PTH, pendant 18 heures à +4 °C et à température ambiante, sur trois types de tubes primaires fermés (tube sec avec gel, *ethylenediaminetetracetic acid* [EDTA], EDTA + aprotinine), obtenue à l'aide de trois automates du marché. Il apparaît que le dosage de la PTH peut être différé de 18 heures par simple maintien du tube primaire fermé au réfrigérateur (+4 °C). L'usage d'un tube sec avec gel séparateur nécessite en plus une centrifugation sur site, 30 minutes après le prélèvement. Contrairement au plasma EDTA, le sérum ainsi conservé autorise le dosage de nombreux paramètres biologiques nécessaires au suivi du patient dialysé. Enfin, le sérum conduit à

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [xavier.parent@ch-colmar.rss.fr](mailto:xavier.parent@ch-colmar.rss.fr) (X. Parent).

**KEYWORDS**

Parathyroid hormone;  
In vitro storage;  
Primary tube;  
Preanalytical conditions

une meilleure transférabilité du dosage de PTH que le plasma EDTA pour les trois techniques testées.

© 2008 Elsevier Masson SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

**Summary** Parathyroid hormone (PTH) is measured in patients with chronic kidney disease (CKD) to evaluate the spread of secondary hyperparathyroidism and to identify renal osteodystrophy subtypes. An important intermethod variability that can significantly influence the clinical decision has been highlighted recently. Similarly, it is acknowledged that the preanalytical conditions are important to optimize the interpretation of a PTH level by comparison with the K/DOQI guidelines. Considering the frequent case of a dialysis patient in whom blood is handled in the evening and addressed to the clinical laboratory the next morning, we have evaluated the stability of the PTH concentration during a 18-hour period. We thus measured PTH with three automated assays in three kinds of tubes (plain tubes with a gel separator, EDTA tubes, EDTA + aprotinin tubes) which were either immediately centrifugated with a prompt freezing of the serum or plasma, or stored for 18 hours at room temperature or at 4 °C. Our results demonstrate that, whatever the kind of tube, the PTH concentration is not altered by a 18-hour storage at 4 °C which is not the case at room temperature. Using a tube with a gel separator necessitates however to centrifugate the tube in the dialysis unit. On the other hand, the use of serum, by contrast with EDTA plasma, allows the measurement of other biological parameters including calcium, does not need that the tube is fully filled and, according to our results, reduces the intermethod variability. In conclusion, this study shows that the measurement of PTH may be delayed by 18 hours if the primary tube is kept at 4 °C. Assuming that the primary tube is centrifugated but not opened in the dialysis unit, serum may be the sample of choice for the measurement of PTH in patients with CKD.

© 2008 Elsevier Masson SAS et Association Société de Néphrologie. Tous droits réservés.

**Introduction**

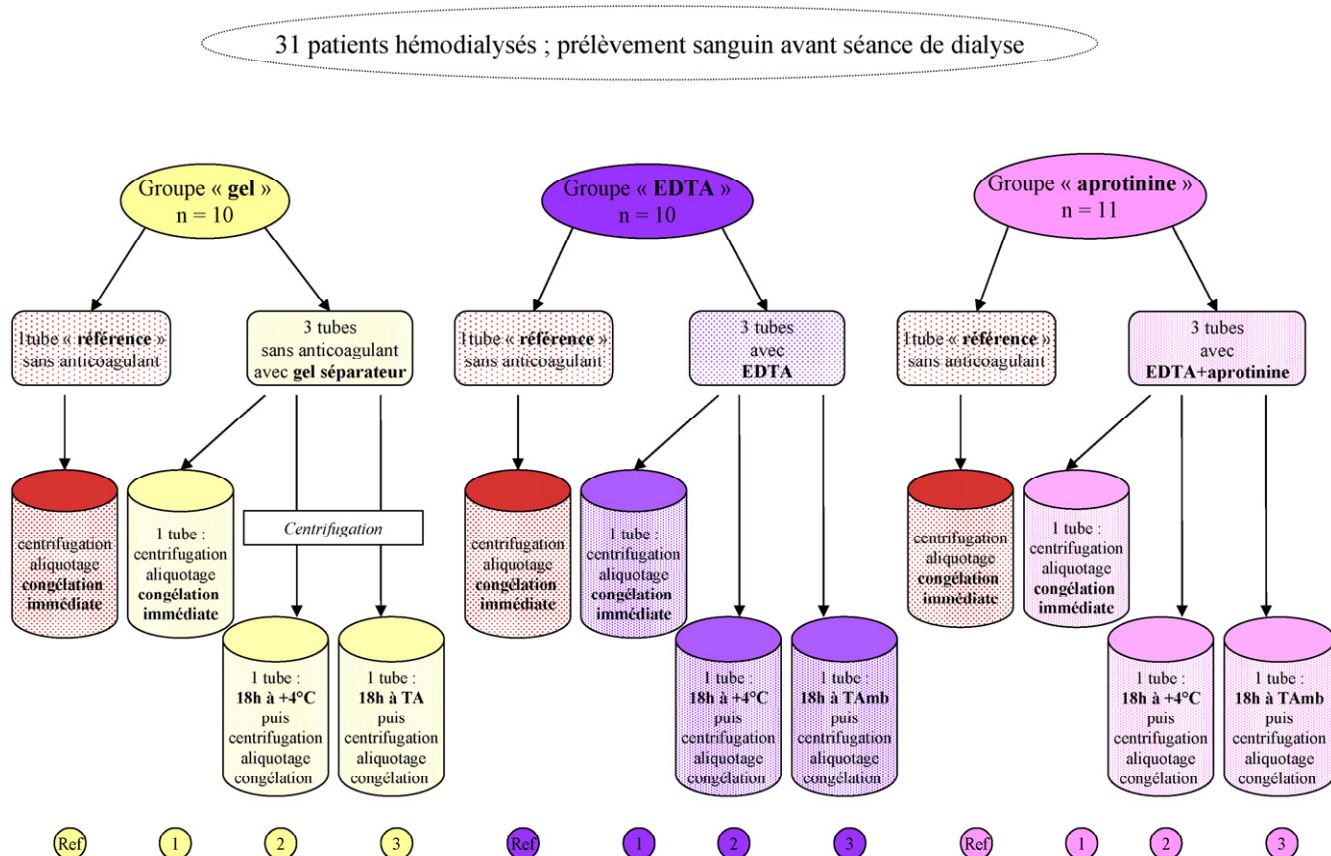
L'hormone parathyroïdienne (parathormone [PTH]) est dosée en pratique clinique chez les patients insuffisants rénaux chroniques afin d'évaluer la progression de l'hyperparathyroïdie et de détecter les différents sous-types d'ostéodystrophie rénale (ODR). Pour prescrire les dosages de PTH et interpréter les résultats, les néphrologues se basent sur des recommandations appelées K/DOQI [1,2]. Il est, par exemple, recommandé de doser la PTH tous les trois mois chez le patient dialysé et de maintenir la concentration entre 150 et 300 ng/l. La fiabilité de la mesure de la PTH est importante car elle conditionne la prescription des molécules qui freinent la sécrétion de PTH (métabolites actifs de la vitamine D, calcimimétiques...). De nombreux problèmes concernant les dosages de PTH ont été cependant identifiés récemment soulignant la nécessité de standardiser les conditions analytiques [3–5] et préanalytiques [6–9] de la mesure de la PTH [9]. Idéalement, l'échantillon sanguin pour doser la PTH des patients dialysés est adressé rapidement au laboratoire, il est centrifugé, le sérum ou le plasma est décanté puis conservé au congélateur (généralement à –20 °C) jusqu'au moment du dosage. Il est toutefois fréquent que le prélèvement sanguin soit effectué dans un centre de dialyse éloigné du laboratoire ou à un horaire ne permettant plus sa prise en charge par le laboratoire avant le lendemain matin. Dès lors, se pose la question du choix du tube et des conditions de stockage en tube primaire maintenu bouché et non décanté. Dans la présente étude, pratiquée dans le cadre du travail d'un groupe de réflexion de la Société française de biologie clinique (SFBC), nous avons étudié la stabilité de la PTH sur prélèvement non décanté, conservé 18 heures à température ambiante (TA) ou à +4 °C. Les échantillons sanguins, obtenus chez des hémodialysés, ont été recueillis

dans trois types de tubes différents et trois automates d'immunoanalyse ont été testés.

**Patients et méthodes**

Nous avons étudié 31 patients hémodialysés (21 dans le service d'hémodialyse du centre hospitalier de Colmar et dix dans le centre de dialyse Aural de Colmar). Les prélèvements sanguins ont été effectués juste avant une séance d'hémodialyse. Pour tous les patients, 5 ml de sang ont été recueillis dans un tube sans anticoagulant et sans gel séparateur (Vacutainer Z, 5 ml, référence 367615, Becton Dickinson, Le Pont de Chaix, France) que nous avons appelé « tube référence ». Parmi les 31 patients, dix (groupe « gel ») ont eu également du sang prélevé dans trois tubes sans anticoagulant mais avec gel séparateur (Vacutainer SST, 4 ml, référence 367783, Becton Dickinson, Le Pont de Chaix, France), dix (groupe « ethylenediaminetetra-cetic acid [EDTA] ») ont eu du sang prélevé dans trois tubes contenant de l'EDTA (Vacutainer K3E 15 %, 7 ml, référence 367655, Becton Dickinson, Le Pont de Chaix, France) et les 11 derniers (groupe « aprotinine ») ont eu du sang prélevé dans trois tubes contenant de l'EDTA et une antiprotéase (Vacutainer K3E 15 %, aprotinine 250 KIU, 5 ml, référence 361017, Becton Dickinson, Le Pont de Chaix, France). Tous les tubes ont été acheminés au laboratoire du centre hospitalier de Colmar, à la température extérieure, dans la demi-heure qui a suivi le prélèvement. Les tubes « référence » ainsi qu'un des trois autres tubes obtenus dans chacun des trois groupes (« gel », « EDTA » et « aprotinine ») ont été immédiatement centrifugés puis décantés. Le sérum ou le plasma a été fractionné en trois aliquotes (une aliquote par automate) immédiatement placées au congélateur à –20 °C.

Concernant les deux tubes restants pour chaque patient, les deux tubes « gel » ont été centrifugés à réception au



**Figure 1** Protocole de travail : groupes de patients, tubes testés, modalités de conservation en tubes primaires maintenus fermés. Un tube sans anticoagulant sans gel séparateur (tube « référence ») est prélevé pour chacun des 31 patients. Pour chaque patient sont également prélevés trois tubes spécifiques du groupe (tubes 1, 2 et 3) : sans anticoagulant avec gel séparateur dans le groupe « gel », avec EDTA dans le groupe « EDTA », avec EDTA et aprotinine dans le groupe « aprotinine ». Les tubes « référence » et tubes 1 des trois groupes sont centrifugés à réception au laboratoire, décantés puis fractionnés en trois aliquotes placées à  $-20^{\circ}\text{C}$ . L'impact de la nature du tube sera étudié sur trois automates par comparaison des concentrations de PTH des aliquotes issues des tubes 1 par rapport à celles des aliquotes issues des tubes « référence ». Les tubes 2 et 3 du groupe « gel » sont centrifugés à réception au laboratoire, pour les groupes « EDTA », ou « aprotinine » les tubes 2 et 3 ne sont pas centrifugés. Pour les trois groupes, les tubes 2 sont placés 18 heures à  $4^{\circ}\text{C}$ , les tubes 3 sont maintenus 18 heures à TA du laboratoire. Après conservation, les tubes « gel » sont décantés, les tubes « EDTA », ou « aprotinine » sont centrifugés puis décantés, avec chaque fois répartition du sérum ou du plasma en trois aliquotes stockées à  $-20^{\circ}\text{C}$ . L'influence des modalités de conservation sera étudiée sur trois automates par comparaison des concentrations de PTH des aliquotes issues des tubes conservés 18 heures (tubes 2 et 3) par rapport à celles des aliquotes issues des mêmes tubes immédiatement décantées congelées (tubes 1).

laboratoire, les deux tubes « EDTA », ou « aprotinine » n'ont pas été centrifugés. Pour chaque paire, un tube a été maintenu 18 heures à TA du laboratoire tandis que l'autre a été placé 18 heures à  $4^{\circ}\text{C}$ . À l'issue de cette conservation, les tubes « gel » ont été décantés, les tubes « EDTA » ou « aprotinine » ont été d'abord centrifugés puis décantés, avec chaque fois répartition du sérum ou du plasma en trois aliquotes stockées eux aussi au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$ . La Fig. 1 présente un résumé de ce protocole.

La PTH a été mesurée selon les recommandations respectives des industriels par trois techniques automatisées de seconde génération : Elecsys 2010<sup>TM</sup> (Roche Diagnostics, Meylan, France), Immulite 2000<sup>TM</sup> (Siemens Medical Solutions Diagnostics SAS, Puteaux, France) et Liaison<sup>TM</sup> (DiaSorin SA, Antony, France). Pour chaque système analytique, les aliquotes issues des quatre tubes d'un même patient ont été analysées dans une même série de dosages sur une même calibration.

## Statistiques

Les données sont présentées en moyenne  $\pm$  standard error of the mean (SEM). Les données appariées ont été comparées par le test non paramétrique de Wilcoxon. La concordance entre les méthodes a été évaluée par la méthode graphique de Bland-Altman. Une valeur de  $p < 0,05$  a été considérée comme significative.

## Résultats

Les concentrations de PTH mesurées par les trois techniques sur les tubes « référence » des 31 patients ne sont pas statistiquement différentes ( $329,9 \pm 56,4$ ,  $313,7 \pm 58,3$  et  $298,6 \pm 47,1$  ng/l avec Elecsys<sup>TM</sup>, Immulite<sup>TM</sup> et Liaison<sup>TM</sup>, respectivement). Sur ces tubes « référence », les trois techniques sont concordantes selon les représentations de Bland-

**Tableau 1** Répartition pour chaque automate utilisé des concentrations de PTH mesurées sur les aliquotes du sérum prélevé sur les tubes « référence » (sans anticoagulant et sans gel séparateur).

|                             | Médiane<br>(intervalle) | < 150 | 150–300 | > 300 |
|-----------------------------|-------------------------|-------|---------|-------|
| Elecsys <sup>TM</sup>       | 254 (31–1252)           | 8     | 14      | 9     |
| Immolute 2000 <sup>TM</sup> | 214 (19–1273)           | 8     | 15      | 8     |
| Liaison <sup>TM</sup>       | 232 (33–1241)           | 8     | 16      | 7     |

La comparaison porte sur les prélèvements de 31 patients. Les concentrations sériques de PTH sont exprimées en nanogrammes par litre. L'intervalle et la médiane des PTH sériques mesurées sont donnés pour chaque automate. Les valeurs sont classées par rapport aux seuils proposés par les K/DOQI [1].

Altman et le classement des patients par rapport aux cibles des K/DOQI (Tableau 1). Un patient peut toutefois être considéré comme *outlier* avec le dosage Liaison<sup>TM</sup> bien que classé dans la même catégorie par les trois techniques

(1221 ng/l avec l'Elecsys<sup>TM</sup>, 1256 ng/l avec l'Immolute<sup>TM</sup> et 625 ng/l avec le Liaison<sup>TM</sup>).

La distribution des concentrations de PTH mesurées par les trois techniques sur les différents tubes avec et sans délai de conservation est présentée dans le Tableau 2.

Lorsque l'on compare dans les trois sous-groupes (« gel », « EDTA » et « aprotinine ») les valeurs obtenues sur les tubes « référence » et sur les tubes spécifiques de ces trois sous-groupes, des différences, dont l'importance dépend de la technique utilisée, apparaissent en particulier pour les tubes EDTA et aprotinine (Tableau 3). La Fig. 2 présente deux tests de Bland-Altman et met en évidence un biais systématique (environ 30–35 %) entre la technique Elecsys<sup>TM</sup> et la technique Immolute<sup>TM</sup> (Immolute<sup>TM</sup> > Elecsys<sup>TM</sup>) lorsqu'on utilise des tubes EDTA ou EDTA + aprotinine, alors que ces techniques produisent des résultats quasiment identiques sur les tubes « référence ».

L'évolution de la concentration de PTH (en pourcentage) lorsque le tube est laissé 18 heures à TA ou à 4 °C par rapport à la concentration mesurée dans le même type de tube centrifugé et congelé immédiatement après l'arrivée au laboratoire est présentée dans le Tableau 4. Lorsque le tube

**Tableau 2** Distribution, intervalles (médianes) des concentrations de PTH mesurées par les trois techniques, en fonction de la nature du tube et des modalités de conservation.

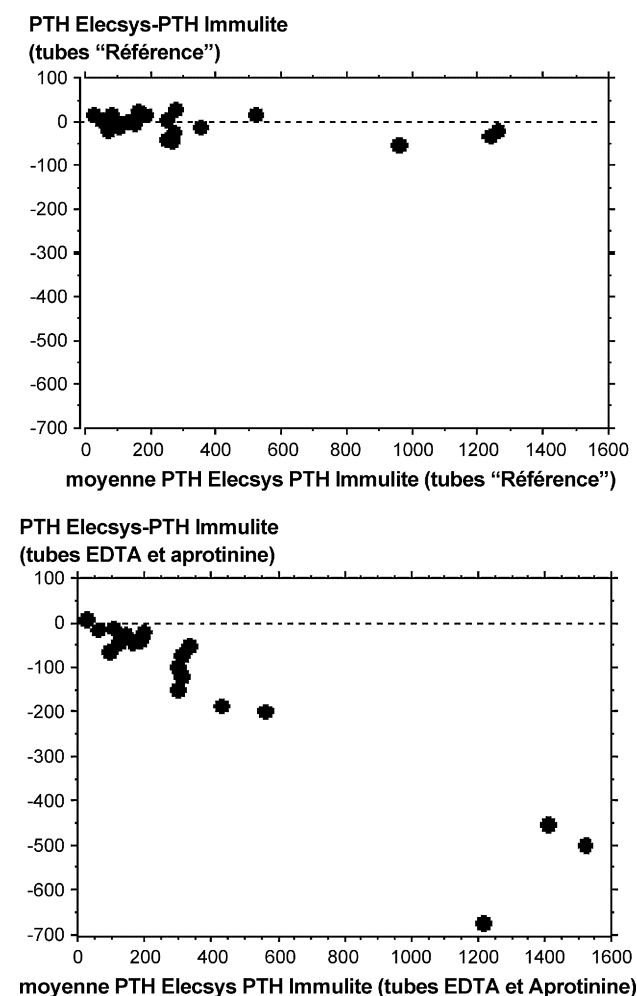
|                              | Tube « référence » | Tube « 1 »<br>congélation rapide | Tube « 2 »<br>18 heures à +4 °C | Tube « 3 »<br>18 heures à TA |
|------------------------------|--------------------|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------|
| <b>Groupe « gel »</b>        |                    |                                  |                                 |                              |
| Elecsys <sup>TM</sup>        | 34–721 (281)       | 35–764 (302,5)                   | 32–792 (273,5)                  | 31–621 (263,5)               |
| Immolute 2000 <sup>TM</sup>  | 20–765 (226)       | 23–776 (244)                     | 19–834 (243)                    | 22–746 (239)                 |
| Liaison <sup>TM</sup>        | 37–620 (261)       | 46–670 (284,5)                   | 43–700 (279,5)                  | 37–570 (221)                 |
| <b>Groupe « EDTA »</b>       |                    |                                  |                                 |                              |
| Elecsys <sup>TM</sup>        | 62–1221 (210)      | 61–1270 (207)                    | 62–1199 (202,5)                 | 62–1208 (207,5)              |
| Immolute 2000 <sup>TM</sup>  | 84–1256 (223)      | 128–1769 (291)                   | 120–1737 (300)                  | 159–2010 (355)               |
| Liaison <sup>TM</sup>        | 105–625 (233)      | 89–600 (197)                     | 96–575 (199)                    | 92–587 (215)                 |
| <b>Groupe « aprotinine »</b> |                    |                                  |                                 |                              |
| Elecsys <sup>TM</sup>        | 37–1252 (151)      | 33–1185 (143)                    | 33–1183 (142)                   | 33–1202 (143)                |
| Immolute 2000 <sup>TM</sup>  | 19–1273 (156)      | 23–1640 (187)                    | 25–1811 (187)                   | 42–2095 (228)                |
| Liaison <sup>TM</sup>        | 33–1241 (161)      | 30–996 (130)                     | 29–1013 (132)                   | 38–1045 (139)                |

Les concentrations sériques de PTH sont exprimées en nanogrammes par litre. Tube « référence » : tube sans anticoagulant sans séparateur. Tube « 1 » congélation rapide : tube testé (gel ou EDTA ou aprotinine) décanté et congelé à réception au laboratoire. Tube « 2 » 18 heures à +4 °C : tube testé (gel ou EDTA ou aprotinine) conservé 18 heures à +4 °C. Tube « 3 » 18 heures à TA : tube testé (gel ou EDTA ou aprotinine) conservé 18 heures à TA.

**Tableau 3** Différence entre les concentrations de PTH obtenues sur le sérum des tubes « référence » (sans anticoagulant et sans gel séparateur) et sur le sérum ou plasma issu des tubes spécifiques des trois sous-groupes immédiatement décantés et congelés.

|                             | Tubes « gel » (%) (n = 10) | Tubes « EDTA » (%) (n = 10) | Tubes « aprotinine » (%) (n = 11) |
|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| Elecsys <sup>TM</sup>       | +2,8 ± 2,8<br>NS           | –1,6 ± 1,4<br>NS            | –1,8 ± 1,7<br>NS                  |
| Immolute 2000 <sup>TM</sup> | +5,6 ± 3,1<br>NS           | +35,4 ± 3,0<br>p = 0,005    | +30,5 ± 4,6<br>p = 0,003          |
| Liaison <sup>TM</sup>       | +9,1 ± 4,2<br>p = 0,03     | –9,1 ± 1,9<br>p = 0,005     | –13,2 ± 2,4<br>p = 0,003          |

Les valeurs (en pourcentage) ont été calculées de la façon suivante : moyenne ± SEM de (PTH tube spécifique – PTH tube référence)/PTH tube référence. La comparaison est évaluée à l'aide du test non paramétrique de Wilcoxon. Les valeurs au-delà de ±10 % apparaissent en gras.



**Figure 2** Comparaison des concentrations de PTH mesurées (représentation de Bland-Altman) chez des patients dialysés par les techniques Elecsys<sup>TM</sup> et Immulite<sup>TM</sup> sur des plasmas (figure du bas) obtenus sur des tubes contenant de l'EDTA ( $n = 10$ ) ou de l'EDTA + aprotinine ( $n = 11$ ) et sur des sérums (figure du haut) obtenus sur des tubes sans anticoagulants. La figure du bas montre un biais systématique entre les deux techniques tandis que la figure du haut montre une quasi-identité entre ces deux techniques.

est placé 18 heures à 4 °C, il n'y a pas de modification significative de la concentration de PTH par rapport à une congélation rapide du sérum ou du plasma si ce n'est une diminution marginale de 3,3 % sur les tubes EDTA avec la méthode Elecsys<sup>TM</sup>. En revanche, lorsque le tube est laissé 18 heures à TA, on observe, suivant le type de tube et suivant la technique de dosage, une diminution ou une augmentation significative de la concentration de PTH. La Fig. 3 montre un exemple de représentation de Bland-Altman illustrant ce phénomène.

## Discussion

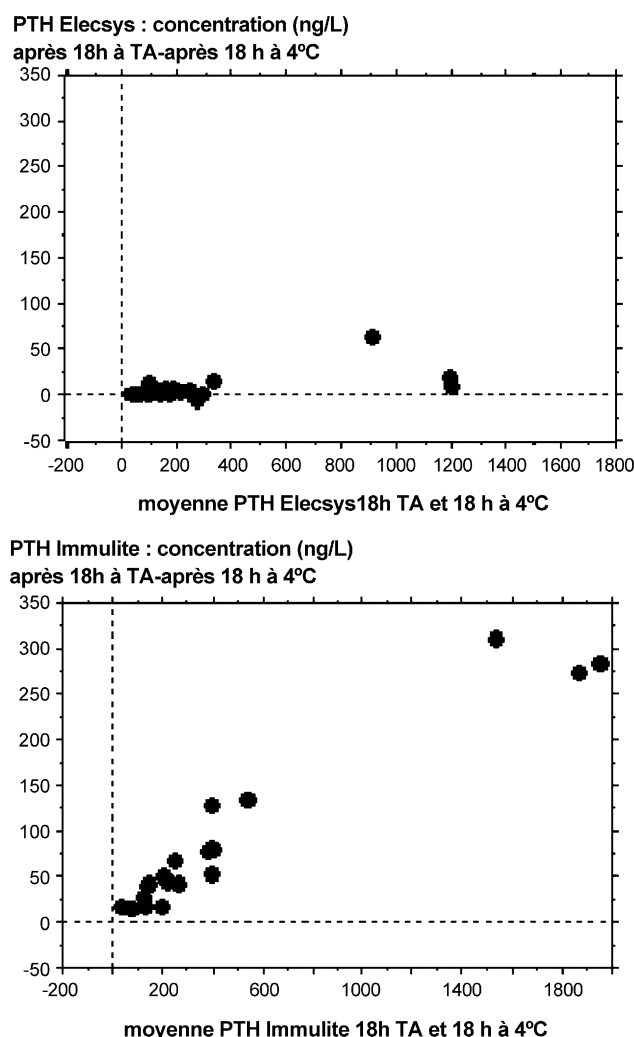
Le but de ce travail était de définir des conditions préanalytiques acceptables pour le dosage de la PTH chez les patients dialysés dans la situation fréquente où l'échantillon sanguin est prélevé dans un centre de dialyse et ne peut pas être traité par le laboratoire avant le lendemain matin. Par principe, nous avons considéré que l'ouverture du tube et sa décantation doivent rester du ressort du laboratoire, en revanche, il nous est paru envisageable, pour le soignant, d'effectuer sur site la simple centrifugation d'un tube fermé. Dans cette optique, nous avons choisi d'étudier la conservation de la PTH au sein de deux tubes primaires avec anticoagulants ne nécessitant aucune manipulation et d'un tube sec avec gel séparateur simplement centrifugé sur site avant conservation.

Le résultat principal de notre étude est que, comparé à des conditions préanalytiques optimales (acheminement, centrifugation, décantation et congélation rapide de l'échantillon), on observe, lorsque le tube de sang non décanté est conservé 18 heures à TA avant son traitement par le laboratoire, une altération de la concentration de PTH dont la nature (diminution ou augmentation) et l'intensité dépendent à la fois du type de tube et de la technique de dosage utilisée. À ce titre, l'élévation de la concentration de PTH mesurée avec la technique Immulite<sup>TM</sup> dans des tubes EDTA (avec ou sans antiprotéase) laissés 18 heures à TA peut paraître étonnante (on attendrait plutôt une baisse de la concentration). Nous ne pouvons pas l'expliquer mais cela est compatible avec les résultats de Holmes et al. [7] qui avaient montré que la concentration de PTH mesurée avec la même technique de dosage sur des plasmas EDTA, augmentait pendant les trois premières heures suivant la prise de sang alors qu'elle était stable dans des sérums. Au contraire, si le

**Tableau 4** Évolution de la concentration de PTH sur le tube laissé 18 heures à TA ou à +4 °C par rapport à la concentration mesurée dans le même type de tube centrifugé et congelé immédiatement après arrivée au laboratoire.

|                             | 18 heures à +4 °C |                           |                  | 18 heures à TA             |                            |                            |
|-----------------------------|-------------------|---------------------------|------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                             | Gel (%)           | EDTA (%)                  | Aprotinine (%)   | Gel (%)                    | EDTA (%)                   | Aprotinine (%)             |
| Elecsys <sup>TM</sup>       | -1,7 ± 2,0<br>NS  | -3,3 ± 0,7<br>$p = 0,007$ | -1,0 ± 1,0<br>NS | -12,0 ± 1,0<br>$p = 0,005$ | +0,1 ± 1,7<br>NS           | +0,9 ± 0,9<br>NS           |
| Immulite 2000 <sup>TM</sup> | +1,5 ± 3,1<br>NS  | -2,7 ± 2,5<br>NS          | -1,8 ± 3,0<br>NS | -1,0 ± 4,0<br>NS           | +21,6 ± 2,9<br>$p = 0,005$ | +28,2 ± 5,8<br>$p = 0,003$ |
| Liaison <sup>TM</sup>       | +0,2 ± 2,5<br>NS  | -0,9 ± 1,7<br>NS          | +1,1 ± 1,9<br>NS | -16,7 ± 1,8<br>$p = 0,005$ | -3,1 ± 2,5<br>NS           | +9,4 ± 2,7<br>$p = 0,006$  |

Les écarts (en pourcentage) sont calculés de la façon suivante. Moyenne ± SEM de (PTH congelée après 18 heures – PTH congelée immédiatement)/PTH congelée immédiatement. La comparaison est évaluée à l'aide du test non paramétrique de Wilcoxon. Les valeurs au-delà de ±10 % apparaissent en gras.



**Figure 3** Comparaison des concentrations de PTH mesurées (représentation de Bland-Altman) chez des patients dialysés par les techniques Elecsys™ (figure du haut) et Immulite 2000™ (figure du bas) sur des plasmas obtenus sur des tubes contenant de l'EDTA ( $n = 10$ ) et de l'EDTA + aprotinine ( $n = 11$ ) et conservés soit 18 heures à 4 °C, soit 18 heures à TA. La figure du haut montre sur Elecsys™ une quasi-identité des concentrations pour les deux modes de conservation. La figure du bas illustre le biais systématique sur Immulite 2000™ entre les deux situations avec une augmentation des concentrations de PTH lorsque les tubes sont conservés à TA versus 4 °C.

tube est laissé 18 heures à 4 °C, la concentration de PTH n'est pas (ou n'est que très modestement) altérée. Ce phénomène a été observé, quel que soit le type de tube parmi les trois que nous avons testés. Bien que significative sur un test statistique de rang (test de Wilcoxon), la diminution marginale (-3,3 %), observée sur plasma EDTA avec l'automate Elecsys™, reste sans conséquence sur la classification des patients par rapport aux valeurs seuil des K/DOQI.

Nos observations ont plusieurs conséquences pratiques. Contrairement à ce qui avait été suggéré avec des tubes conservés à TA [10,11], l'ajout d'une antiprotéase au tube de prélèvement ne semble pas nécessaire si le tube est conservé 18 heures à 4 °C avant son acheminement au laboratoire. Cela est un avantage en terme de coût, les tubes « EDTA/

aprotinine » étant plus chers (deux fois) que les tubes sans anticoagulant et les tubes « EDTA ». Le choix entre tubes EDTA et tubes sans anticoagulant n'est ensuite pas évident et nous avons relevé les avantages et inconvénients respectifs de ces deux types de tubes. Tout d'abord, contrairement aux tubes sans anticoagulant, il n'est pas possible de doser le calcium (dosage normalement toujours prescrit avec celui de la PTH) sur les tubes EDTA. Ensuite, il a été montré qu'avec certaines techniques de dosage de la PTH comme la technique Immulite™, il est nécessaire que les tubes EDTA (mais pas les tubes sans anticoagulant) soient remplis à plus de 50 % [12], ce qui peut parfois compliquer la tâche du préleveur. À l'inverse, les tubes EDTA peuvent être traités (centrifugation, décantation) rapidement par le laboratoire alors qu'un délai minimum (de l'ordre de 30 à 45 minutes) est nécessaire avec les tubes sans anticoagulant afin d'assurer la formation du caillot. Enfin, il faut se rappeler que les concentrations cibles de PTH recommandées dans les K/DOQI (par exemple, de 150 à 300 ng/l pour les insuffisances rénales chroniques (IRC) de stade 5) ont été établies à partir d'études qui ont comparé des données histo-morphométriques de biopsies osseuses à des concentrations de PTH mesurées avec la technique Allegro de la société Nichols Institute Diagnostics. Cette technique n'étant plus disponible aujourd'hui, il est conseillé d'utiliser une technique de dosage de PTH produisant des concentrations similaires à celles obtenues avec la technique Allegro. Plusieurs auteurs ont montré que la technique Elecsys™ de la société Roche Diagnostics donnait des valeurs sériques très proches de celles obtenues avec la technique Allegro [3,4] malgré l'utilisation d'anticorps dirigés vers des épitopes différents. Dans la présente étude, les trois techniques testées donnaient des valeurs sériques très proches (Tableau 1). La nature du tube de prélèvement semble de peu d'influence sur la technique Elecsys™. En revanche, la concentration de PTH dosée sur tube EDTA ou EDTA + aprotinine est significativement plus basse que sur sérum avec le dosage Liaison™ et plus haute avec le dosage Immulite™, phénomène déjà constaté par d'autres sur des tubes EDTA [7,13,14] et aussi retrouvé avec une autre technique de dosage (Advia Centaur) [15]. Ces résultats apportent un autre argument en faveur de l'utilisation de tubes sans anticoagulant. L'utilisation d'un tube sans anticoagulant avec gel séparateur permet de doser sur le même échantillon que la PTH des paramètres biochimiques courants utiles au suivi du patient dialysé. Nous devons toutefois souligner que ce choix impose une centrifugation sur site.

Nos résultats peuvent laisser penser que la nature de l'échantillon et la conservation 18 heures à TA ont le plus fort impact sur les concentrations mesurées, les trois techniques donnant des résultats équivalents sur les tubes « référence ». Cela ne doit toutefois pas être considéré comme généralisable à toutes les techniques car des études précédentes [3,4] ont démontré que le choix de la technique de dosage pouvait dans certains cas avoir un impact très important sur les résultats. Le choix des trois automates testés dans cette étude était simplement dicté par leur présence dans le laboratoire de l'hôpital de Colmar.

## Conclusion

Pour un site de dialyse ne pouvant accéder rapidement au laboratoire, le dosage de la PTH peut être différé de 18 heures

par simple maintien du tube primaire fermé au réfrigérateur (+4 °C). Contrairement aux tubes avec EDTA, le tube sec avec gel séparateur est au préalable centrifugé sur site, 30 minutes après le prélèvement. En contrepartie, dans ces conditions, le sérum autorise en plus de la PTH, le dosage de différents paramètres biologiques de suivi du patient dialysé tel que Ca, phosphore, ionogramme, créatinine... Enfin, dans ce travail, le sérum conduit à une meilleure transférabilité intertechnique des dosages de PTH que le plasma EDTA.

## Références

- [1] K/DOQI. Guidelines for the management of renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 2003;42(suppl. 3):S1–S201.
- [2] Rottembourg J, Diab R, Boulechfar H. Comment atteindre et maintenir les recommandations K/DOQI sur le métabolisme phosphocalcique chez les patients dialysés : une stratégie efficace. *Nephrol Ther* 2007;3:33–42.
- [3] Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, Chevenne D, Coumaros G, Lawson-Body E, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int* 2006;70:345–50.
- [4] Cantor T, Yang Z, Caraini N, Ilamathi E. Lack of comparability of intact parathyroid hormone measurement among commercial assays for end-stage renal disease patients: implication for treatment decision. *Clin Chem* 2006;52:1711–6.
- [5] Urena-Torres P. The need for reliable serum parathyroid hormone measurement. *Kidney Int* 2006;70:240–3.
- [6] Twoney PJ, Whitlock T, Pledger DR. Differences between serum and plasma for intact parathyroid hormone measurement in patients with chronic renal failure in routine clinical practice. *J Clin Pathol* 2005;58:1000–1.
- [7] Holmes D, Levin A, Forer B, Rosenberg F. Preanalytical influences on DPC Immulite 2000™ intact PTH assays of plasma and serum from dialysis patients. *Clin Chem* 2005;51:915–7.
- [8] Cavalier E, Delanaye P, Carlisi A, Krzesinski JM, Chapelle JP. Stability of intact parathyroid hormone in samples from haemodialysis patients. *Kidney Int* 2007;72:370–2.
- [9] Bacchetta J, Jolivot A, Souberbielle JC, Charrié A, Guebre F, Chauvet C, et al. Parathormone et maladie rénale chronique. *Nephrol Ther* 2007;3:133–8.
- [10] Anderson NR, Nicholas J, Holland MR, Gama R. Effect of a protease inhibitor on in vitro stability of intact parathyroid hormone. *Ann Clin Biochem* 2003;40:188–90.
- [11] Levin GE, Nisbet JA. Stability of parathyroid hormone-related protein and parathyroid hormone at room temperature. *Ann Clin Biochem* 1994;31:497–500.
- [12] Glendenning P, Musk A, Taranto M, Vasikaran S. Preanalytical factors in the measurement of intact parathyroid hormone with the DPC Immulite assay. *Clin Chem* 2002;48:566–7.
- [13] Omar H, Chamberlin A, Walker V, Wood PJ. Immulite 2000™ parathyroid hormone assay; stability of parathyroid hormone in EDTA blood kept at room temperature for 48 h. *Ann Clin Biochem* 2001;38:561–3.
- [14] Glendenning P, Laffer L, Weber H, Musk A, Vasikaran S. Parathyroid hormone is more stable in EDTA plasma than in serum. *Clin Chem* 2002;48:766–7.
- [15] Twoney P, Whitlock T, Pledger D. Differences between serum and plasma for intact parathyroid hormone measurement in patients with chronic renal failure in routine clinical practice. *J Clin Pathol* 2005;58:1000–1.