

Leptin Sensitiv ELISA

REF E077

IVD

Mode d'emploi Français



E077_IFU_IVD_FR

Validation: 09.11.2023

Révision: 002/11.2023

Pour le diagnostic in vitro. DIV pour une utilisation professionnelle.

Veuillez lire entièrement le mode d'emploi avant utilisation.

| | |
|-----------------------------------|--|
| Leptin Sensitiv ELISA E077 | 96 déterminations |
| CE | DE/CA40/00809/21/1 |
| Principe du test | Enzyme-linked Immunoassay (méthode immuno-enzymatique) |
| Durée (temps d'incubation) | 1,75 h |
| Anticorps | Anticorps monoclonaux, prêts à l'emploi |
| Tampon | Prêt à l'emploi et concentré 20 fois |
| Calibrateurs | 5 calibrateurs individuels : 0,05 - 5 µg/L, leptine humaine recombinante |
| Matériel de référence | Standard international OMS/NIBSC 97/594 leptine recombinante (15,16) |
| Plage de dosage | 0,01 – 50 µg/L |
| Contrôle | 2 contrôles, lyophilisé |
| Échantillons | Sérum / plasma humain Mesures précises également sur des personnes minces, par ex. patients anorexiques ou cachectiques, adolescents et jeunes enfants. |
| Volume d'échantillon requis | 25 µL |
| Dilution des échantillons | 1:10 |
| Sensibilité analytique | ∅ 0,01 µg/L |
| Variance intra- / inter-dosages | ∅ < 10 % |
| Valeurs de référence | Blum WF, Juul A; Reference ranges of serum leptin, In: Leptin- the voice of adipose tissue, Blum WF et al. eds. Johann Ambrosius Verlag, Heidelberg, 1997 |

Modifications par rapport à la version précédente :

| Révision | Description |
|----------|--|
| 001 | Passage au mode d'emploi électronique, modifications rédactionnelles |
| 002 | Page 8, 6.2 La citation de la littérature (37) a été remplacée par (10). |













Mediagnost GmbH
 Aspenhaustrasse 25
 72770 Reutlingen
 Allemagne
 ☎ +49 7121 514840
 ✉ contact@mediagnost.de
 www.mediagnost.de

Sommaire

| | | |
|----|--|----|
| 1 | Usage prévu | 5 |
| 2 | Introduction | 5 |
| 3 | Principe du test | 5 |
| 4 | Matériel | 6 |
| 5 | Avertissements et mesures de précaution..... | 7 |
| 6 | Échantillons | 8 |
| 7 | Notes techniques | 9 |
| 8 | Stabilité et stockage..... | 10 |
| 9 | Réalisation du test – Schéma de déroulement..... | 11 |
| 10 | Contrôle qualité..... | 12 |
| 11 | Évaluation | 12 |
| 12 | Valeurs de référence | 14 |
| 13 | Propriétés du test et validation | 21 |
| 14 | Références | 22 |

Tous les incidents graves en rapport avec le produit Mediagnost Leptin sensitiv ELISA E077 doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente du pays où est domicilié l'utilisateur et/ou le patient.

Symboles et acronymes

| Symbole | Description |
|---|---|
|  | Date de péremption |
|  | Veuillez suivre le mode d'emploi électronique |
|  | Diagnostic in vitro |
|  | Numéro de lot |
|  | Fabriqué par |
|  | Numéro de commande |
|  | Température de stockage |
|  | Contenu suffisant pour x tests |
|  | Identification unique du produit (Unique Device Identification) |
|  | Ne pas exposer à la lumière du soleil |

| Acronyme | Description |
|----------------------|----------------------------|
| MTP | Plaque microtitre |
| CAL A – E | Calibrateur A – E |
| CTR1 | Contrôle 1 |
| CTR2 | Contrôle 2 |
| DET | Conjugué anticorps-POD |
| DIL | Tampon de dilution |
| WB | Tampon de lavage |
| S | Substrat |
| STP | Solution d'arrêt |
| CF | Film adhésif de protection |
| CERT | Certificat de lot |

1 Usage prévu

Mesure quantitative de leptine humaine dans le sérum ou le plasma humain.

2 Introduction

La protéohormone leptine a été identifiée en 1994 comme étant le produit du gène ob (1,2). Son poids moléculaire est de 16 kD et on suppose qu'elle joue un rôle clé dans la régulation du poids corporel. La leptine est produite presque exclusivement par des cellules graisseuses différenciées (3-5). Elle agit sur le système nerveux central, en particulier l'hypothalamus, bloquant l'absorption alimentaire et augmentant la consommation d'énergie (2,6-9). Outre son influence sur le métabolisme, la leptine a également une forte influence sur un certain nombre d'axes endocriniens. Pour un usage clinique, il est important de savoir que les niveaux de leptine présentent une variation circadienne modérée, culminant vers 2 heures du matin (10). À cette heure de la journée, le taux de leptine est environ 30-100 % plus élevé que celui mesuré le matin ou en début d'après-midi. Comme pour la prise alimentaire, ces fluctuations doivent être prises en compte lors du prélèvement d'échantillons de sang.

Dans des conditions normalisées, par exemple un rythme alimentaire normal et une prise de sang le matin ou en début d'après-midi, une mesure de la leptine suffit pour obtenir un résultat informatif.

Des plages de référence sont requises pour une interprétation pertinente des taux mesurés de leptine. La masse grasse corporelle étant le facteur ayant la plus forte influence sur les mesures, les plages de référence doivent être basées sur la masse grasse corporelle (indice de masse corporelle, IMC ou pourcentage de masse grasse corporelle, déterminé par l'estimation de l'impédance bioélectrique, BIA). Il existe une corrélation entre le taux de leptine et l'âge (11). En outre, pour une masse grasse identique, les femmes présentent un taux de leptine plus élevé que les hommes (12,13). Par conséquent, les plages de référence doivent également tenir compte du sexe et du développement pubertaire.

Ce kit d'immunodosage peut servir à déterminer la leptine humaine dans le sérum ou le plasma à des fins diagnostiques. Le kit de test est également adapté pour mesurer la leptine à des concentrations particulièrement faibles, par exemple dans des échantillons de patients anorexiques ou cachectiques et d'enfants.

Pour l'utilisation standard, la mesure du sérum ou du plasma de personnes ayant un poids normal (valeurs attendues entre 1 et 100 ng/mL de leptine), nous recommandons notre test leptine ELISA référence produit E07.

3 Principe du test

Le Mediagnost ELISA E077 pour la mesure sensible de leptine est ce que l'on appelle un test en sandwich, utilisant deux anticorps spécifiques. Le premier anticorps couplé à la plaque microtitre, lie la leptine de l'échantillon. Lors de l'étape ultérieure, le deuxième anticorps anti-leptine spécifique se lie à la leptine ainsi immobilisée. La réaction enzymatique suivante entraîne une coloration bleue du substrat, dont l'intensité dépend de la teneur en leptine de l'échantillon. Après l'arrêt de la réaction avec de l'acide, l'intensité de la couleur jaune est quantifiée en mesurant l'absorption et convertie en concentration de leptine à l'aide d'une courbe de calibration.

4 Matériel

4.1 Contenu du kit de test

Les réactifs fournis dans le kit de test sont suffisants pour réaliser 96 tests.

| Acronyme | Description | Quantité |
|------------------|--|--------------|
| MTP | Plaque microtitre , prête à l'emploi, revêtue d'anticorps de souris anti-leptine humaine. Les puits sont sécables. | 8 x 12 puits |
| CAL A – E | Calibrateurs A – E , lyophilisés (leptine humaine recombinante), les concentrations sont indiquées en ng/mL sur les étiquettes et le certificat de lot. | 5 x 1 mL |
| CTR1 | Contrôle 1 , lyophilisé, (sérum humain), La valeur cible et la plage acceptable sont indiquées en ng/mL sur le certificat de lot. | 1 x 250 µL |
| CTR2 | Contrôle 2 , lyophilisé, (sérum humain), La valeur cible et la plage acceptable sont indiquées en ng/mL sur le certificat de lot. | 1 x 250 µL |
| DET | Conjugué anticorps-POD , prêt à l'emploi, Anticorps de souris anti-leptine humaine biotinylé + conjugué streptavidine-peroxydase. | 1 x 12 mL |
| DIL | Tampon de dilution , prêt à l'emploi | 1 x 60 mL |
| WB | Tampon de lavage , solution concentrée 20 fois | 1 x 50 mL |
| S | Substrat , prêt à l'emploi, substrat de peroxydase de raifort (POD), tétraméthylbenzidine stabilisé. | 1 x 12 mL |
| STP | Solution d'arrêt , prête à l'emploi, Acide sulfurique 0,2 M. | 1 x 12 mL |
| CF | Film adhésif de protection pour la plaque microtitre | 2 x |
| CERT | Certificat de lot | 1 x |

4.2 Matériel requis non fourni

- Eau déminéralisée ou distillée (Aqua destillata, A. dest), 950 mL
- Micropipettes à volume réglable et pipettes multicanaux avec pointes interchangeables
- Mélangeur Vortex
- Agitateur pour plaques microtitres (350 tr/min)
- Laveur pour plaques microtitres (en option)
- Photomètre pour plaques microtitres (lecteur ELISA), filtres 450 nm et ≥ 590 nm
- Éprouvettes en polypropylène (PP) / polyéthylène (PE) pour diluer les échantillons

5 Avertissements et mesures de précaution

Le kit Mediagnost ne convient qu'aux diagnostics in vitro et non à une utilisation interne chez l'homme et l'animal. Ce produit est destiné à être utilisé uniquement par du personnel qualifié, dans le respect scrupuleux des instructions fournies. Mediagnost GmbH ne peut être tenue responsable de toute perte ou dommage résultant du non respect des instructions, sauf disposition légale contraire. Une fiche de données de sécurité est disponible sur www.mediagnost.de ou peut être mise à disposition sur demande.

ATTENTION: Ce kit contient du matériel biologique d'origine humaine et/ou animale. Les composants du kit doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux.

Les contrôles CTR1 et CTR2 contiennent du matériel biologique d'origine humaine. Le matériel biologique humain utilisé pour la préparation de ce produit a été testé avec un résultat négatif pour certains agents infectieux pertinents tels que l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et l'ARN du virus de l'hépatite C (VHC). Des résultats de test négatifs ont également été obtenus lors de tests de dépistage de l'antigène de surface de l'hépatite B (HBsAg), lors des tests de dépistage des anticorps contre les virus de l'immunodéficience humaine I et II (anti-VIH I et II), l'antigène de base de l'hépatite B (anti-HBc) et le virus de l'hépatite C (anti-VHC). Toutefois, aucun test ne pouvant exclure totalement la présence d'agents infectieux, les réactifs doivent être manipulés comme du matériel potentiellement infectieux.

Veillez ne pas utiliser de réactifs périmés, visiblement endommagés, contaminés par des micro-organismes ou présentant des fuites. Dans un tel cas, contactez contact@mediagnost.de et conservez les réactifs en rapport avec la réclamation. Les composants ne doivent pas être échangés entre les lots.

Des mesures de précaution appropriées et les bonnes pratiques de laboratoire doivent impérativement être respectées lors du stockage, de l'utilisation et de la mise au rebut des composants du kit. La mise au rebut des composants du kit doit être effectuée conformément aux réglementations locales.

5.1 Réactifs

CAL, CTR, DET, DIL contiennent:

Pictogrammes de danger (CLP):



GHS07

Mention d'avertissement (CLP):

Attention

Composants dangereux:

2-méthylisothiazol-3(2H)-one, masse de réaction de 5-chloro-2-méthyl-2H-isothiazol-3-one et de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one (3:1)

Mentions de danger (CLP):

H317 - Peut provoquer une allergie cutanée.

H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Conseils de prudence (CLP):

P261 - Éviter de respirer brouillards/vapeurs/aérosols.

P273 - Éviter le rejet dans l'environnement.

P280 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux.

P333 + P313 - En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.

P362 + P364 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

P501 - Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation nationale.

6 Échantillons

6.1 Matériel utilisé pour les échantillons

Le sérum ou le plasma humain peut être utilisé comme échantillon.

Aucun écart significatif des taux de leptine n'a été constaté dans les échantillons de sérum et de plasma EDTA correspondants.

6.2 Prise de sang / Prélèvement d'échantillons

Le sang destiné au prélèvement de l'échantillon doit être prélevé par ponction veineuse standard, réalisée par un personnel qualifié. Les réactions hémolytiques doivent être évitées.

Les échantillons de sérum ou de plasma humains doivent être prélevés le matin ou en début d'après-midi, dans un état nutritionnel normal.

Les concentrations de leptine présentent une variation circadienne, avec une valeur maximale vers 2 heures du matin (10). Comme la prise de nourriture, ces fluctuations doivent être prises en compte lors du prélèvement d'échantillons de sang.

6.3 Volume d'échantillon requis

Une détermination unique requiert au minimum 10 µL d'échantillon, une double détermination 20 µL. Pour une manipulation correcte en toute sécurité, un volume d'échantillon plus élevé sera nécessaire selon la procédure.

6.4 Stabilité des échantillons

Les échantillons doivent être stockés dans des récipients pour échantillons appropriés et hermétiquement fermés.

Pour le stockage à long terme des échantillons, une température de stockage de -20°C ou moins est recommandée. Le stockage des échantillons sur une période de 2 ans à -20°C n'a eu aucun impact sur la valeur mesurée. La congélation et la décongélation des échantillons doivent être réduites au strict minimum. 5 cycles de congélation-décongélation n'ont eu aucun impact sur les échantillons.

| Température de stockage | Durée de stockage |
|-------------------------|-------------------|
| 20 – 25 °C | max. 2 jours |
| 2 – 8 °C | max. 3 jours |

6.5 Interférence

L'hémoglobine, les triglycérides et la bilirubine présents dans l'échantillon n'ont eu aucun impact sur la mesure jusqu'à des concentrations de **1 mg/mL**, **100 mg/mL** et **200 µg/mL** respectivement. L'utilisation d'échantillons hémolytiques, lipémiques ou ictériques doit être préalablement évaluée par l'utilisateur.

6.6 Dilution des échantillons

Les échantillons doivent être dilués au 1:10 dans le tampon de dilution **DIL**. Lorsque des valeurs inférieures à 0,5 ng/mL de leptine sont attendues ou obtenues, l'échantillon doit et peut être dilué moins fortement, au moins au 1:5. Si une valeur supérieure à 50 ng/mL est attendue ou obtenue, l'échantillon doit et peut par conséquent être dilué davantage, voir à ce sujet le tableau 13.

6.6.1 Exemple de protocole de dilution

Par exemple, on présente 225 µL de tampon de dilution **DIL** dans des récipients en PE/PP pour la double détermination, et on pipète 25 µL de sérum ou de plasma (équivalent à une dilution au 1:10). Après mélange, 2 x 100 µL (100 µL par puits) de cette solution sont utilisés dans le dosage.

7 Notes techniques

7.1 Préparation des réactifs

Tous les composants du kit doivent être **amenés à température ambiante (20-25°C) avant utilisation**. Les précipités éventuellement présents dans certains tampons doivent être resolubilisés par mélange et chauffage avant utilisation. Les réactifs des kits portant des numéros de lot différents ne doivent pas être mélangés.

7.2 Reconstitution

Les calibrateurs **A – E** et les contrôles **CTR1 et CTR2** sont reconstitués avec le tampon de dilution **DIL** contenu dans le kit. Pour la reconstitution, les réactifs doivent reposer à température ambiante pendant 15 minutes, puis mélangés vigoureusement avec un mélangeur Vortex. La formation de mousse doit cependant être évitée.

7.3 Dilution

Après la reconstitution, les contrôles **CTR1 et CTR2** sont dilués avec le tampon de dilution **DIL** dans la même proportion que les échantillons. Les calibrateurs sont prêts à être utilisés après reconstitution et ne doivent pas être dilués.

Le volume de tampon de lavage **WB** requis pour la réalisation du dosage est préparé par dilution du concentré 20 fois avec de l'eau distillée au rapport de 1:20.

7.4 Incubation

Une incubation à température ambiante signifie : **Incubation à 20 - 25°C**.

Le substrat **S**, du tétraméthylbenzidine stabilisé, est photosensible. La conservation et l'incubation doivent donc se faire à l'abri de la lumière.

7.5 Réalisation du test

Les mesures (valeur de blanc, calibrateurs **A-E**, contrôles **CTR1 et CTR2** et échantillons) doivent toujours être effectuées en double. Il faut veiller à effectuer un pipetage précis et à suivre scrupuleusement le protocole de test. Les calibrateurs **A-E**, les contrôles **CTR1, Ctr2** et les échantillons respectifs doivent être pipetés le plus rapidement possible lors de la réalisation du test. Le conjugué anticorps-POD **DET**, le substrat **S** et la solution d'arrêt **STP** doivent ensuite être ajoutés à la plaque dans le même ordre chronologique et dans le même intervalle de temps. Ceci, afin d'éviter des variations lors de la détermination de la concentration en raison de différents temps d'incubation.

7.6 Agiter

Les incubations doivent être agitées à l'aide d'un agitateur adapté aux plaques microtitres, à une fréquence de rotation de **350 tr/min**. Selon la conception, des écarts individuels par rapport à cette valeur sont possibles. La fréquence de rotation doit alors être ajustée. Une agitation insuffisante peut entraîner une réduction des densités optiques, de fortes dispersions et/ou des valeurs incorrectes. En revanche, une agitation excessive peut entraîner une augmentation des densités optiques.

7.7 Laver

Un lavage correct est essentiel pour un fonctionnement sûr, correct et précis du test. Un lavage insuffisant est fréquemment à l'origine de tests non valides. Il peut en résulter des variations non spécifiques non contrôlées des densités optiques mesurées, susceptibles d'entraîner des calculs de résultats erronés des échantillons. Il est possible de les identifier, par exemple, grâce à des valeurs de blanc élevées et des mesures de dispersion variable. Le lavage doit être effectué à l'aide du tampon de lavage fourni et dilué à la concentration d'utilisation. Le volume de lavage par cycle de lavage et par puits doit être d'au moins 300 µL.

Lors de l'utilisation d'un **laveur automatique spécialement conçu pour les plaques microtitres**, suivez impérativement le mode d'emploi joint. Les réglages de l'appareil doivent être adaptés entre autres à la géométrie de la plaque microtitre et aux paramètres des spécifications de lavage. Il faut veiller à ce que les capillaires de distribution et d'aspiration de l'appareil n'endommagent pas la surface

des puits de la plaque microtitre. Le liquide résiduel restant après chaque aspiration doit être réduit au minimum. Une fois le processus de lavage terminé, il convient de vérifier la quantité de liquide résiduel et, si nécessaire, de la réduire en tapotant plusieurs fois la plaque microtitre sur de la cellulose non pelucheuse.

Le lavage à la main constitue une bonne alternative. Le liquide de lavage peut être distribué à l'aide d'un multistepper, d'une pipette multi-canaux, ou encore avec un flacon. Le liquide de lavage peut être éliminé en secouant énergiquement la plaque microtitre au-dessus d'un évier. Dans le cas où des dispositifs d'aspiration sont utilisés, veillez à ne pas endommager les surfaces des puits de la plaque microtitre. Après chaque cycle de lavage, le liquide résiduel restant doit être complètement éliminé en tapotant la plaque microtitre sur de la cellulose non pelucheuse.

8 Stabilité et stockage

8.1 Conditions de stockage

Après réception, le kit de test doit être conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.

8.2 Durée de conservation

La durée de conservation des réactifs **après première ouverture** est de 4 semaines. Les bandelettes non utilisées **de la plaque de test** doivent être stockées **hermétiquement** avec le coussinet de séchage dans le sac à clip refermable à 2 - 8°C. Veuillez utiliser les bandelettes uniquement dans le cadre fourni. **Les composants reconstitués** (calibrateurs **A – E** et contrôles **CTR1** et **CTR2**) doivent être conservés à -20°C. Pour une utilisation ultérieure, décongeler à la température ambiante maximale, sans mélange au vortex excessif. 3 de ces cycles de congélation-décongélation n'ont présenté aucun impact sur l'essai. Le tampon de lavage **WB** dilué au 1:20 est stable pendant 4 semaines à 2-8° C.

9 Réalisation du test – Schéma de déroulement

| Préparation des réactifs | | | |
|---|--|--|--|
| Préparation du réactif | Reconstitution | Dilution | |
| CAL A-E | Calibrateurs | dans 1 mL respectivement Tampon de dilution DIL | - |
| CTR1 CTR2 | Contrôles | dans 250 µL Tampon de dilution DIL | 1:10 dans le tampon de dilution DIL |
| WB | Tampon de lavage Concentré 20 fois | - | 1:20 avec Aqua dest. |
| Dilution des échantillons : 1:10 par ex. 225 µL de DIL + 25 µL d'échantillon | | | |
| Avant de réaliser le test, amener tous les réactifs à température ambiante (20-25°C) . | | | |
| Réalisation du test en double détermination | | | |
| Pipetage | Réactifs | Position | |
| 100 µL | Tampon de dilution DIL (valeur de blanc) | A1/A2 | |
| 100 µL | Calibreur CAL A (0,05 ng/mL) | B1/B2 | |
| 100 µL | Calibreur CAL B (0,5 ng/mL) | C1/C2 | |
| 100 µL | Calibreur CAL C (1,5 ng/mL) | D1/D2 | |
| 100 µL | Calibreur CAL D (3,5 ng/mL) | E1/E2 | |
| 100 µL | Calibreur CAL E (5 ng/mL) | F1/F2 | |
| 100 µL | CTR1 Contrôle 1 (dilué au 1:10) | G1/G2 | |
| 100 µL | CTR2 Contrôle 2 (dilué au 1:10) | H1/H2 | |
| 100 µL | Échantillon (dilué au 1:10) | Pipeter si besoin dans les puits restants | |
| Recouvrir les puits hermétiquement avec du film adhésif de protection. | | | |
| Incubation : 1 h à (20-25°C), 350 tr/min | | | |
| 3x 300 µL | Aspirer et laver la plaque 3x avec 300 µL de tampon de lavage (dilué au 1:20) par puits. | Dans chaque puits | |
| 100 µL | Conjugué anticorps-POD DET | Dans chaque puits | |
| Recouvrir les puits hermétiquement avec du film adhésif de protection. | | | |
| Incubation : 30 minutes à (20-25°C), 350 tr/min | | | |
| 3x 300 µL | Aspirer et laver la plaque 3x avec 300 µL de tampon de lavage (dilué au 1:20) par puits. | Dans chaque puits | |
| 100 µL | Substrat S | Dans chaque puits | |
| Incubation du substrat S : 15 minutes à l'obscurité à (20-25°C) | | | |
| 100 µL | Solution d'arrêt STP | Dans chaque puits | |
| Mesure de l'absorption dans les 30 min à 450 nm (filtre de référence ≥ 590 nm). | | | |

10 Contrôle qualité

Pour être valide, un test doit être apprécié et évalué selon les critères suivants :

- Pour l'évaluation du test, il convient de s'assurer que les absorbances de la valeur de blanc ne dépassent pas 0,25 unité, tandis que le calibrateur E doit atteindre des absorbances supérieures à 1,0 unité.
- Les concentrations mesurées des contrôles du kit doivent se situer dans la plage acceptable spécifiée sur le certificat de lot inclus dans le kit de test.

Si ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être répété.

Il convient par ailleurs de respecter les points suivants :

- Les échantillons pour lesquels on constate des absorbances en dehors de la plage de calibration des **CAL A - CAL E**, se situent en dehors de la courbe de calibration et devront être recalculés lors d'un second dosage avec une dilution ajustée pour une détermination sûre.
- Les absorbances des calibrateurs, qui sont également indiquées sur le certificat de lot, correspondent à des exemples de spécifications et ne doivent pas être utilisés pour le calcul des échantillons mesurés.

11 Évaluation

11.1 Création de la courbe de calibration

Les calibrateurs fournis contiennent les concentrations en leptine suivantes :

| Calibrateur | A | B | C | D | E |
|-------------|------|-----|-----|-----|---|
| ng/mL | 0,05 | 0,5 | 1,5 | 3,5 | 5 |

- a) Détermination de la **moyenne** de la densité optique de la valeur de blanc à partir des déterminations en double (puits A1/A2).
- b) La valeur de blanc moyenne est soustraite des moyennes de densité optique des calibrateurs, des contrôles et des échantillons.
- c) Les concentrations des calibrateurs (axe X) sont reportées sur la densité optique mesurée (axe Y).
- d) La courbe de calibration doit être calculée à l'aide d'un programme statistique, car en général, elle n'est pas parfaitement décrite par régression linéaire. **Un polynôme de degré supérieur, des ajustements à 4 paramètres ou une régression non linéaire** sont indiqués pour l'évaluation, un ajustement de spline ou de point à point pouvant se révéler opportun dans certains cas.
- e) La courbe de calibration est utilisée pour obtenir la concentration en leptine des contrôles dilués **CTR1** et **CTR2** ou des échantillons dilués. En **multipliant** la teneur en leptine calculée respective **par le facteur de dilution** correspondant, on obtient la concentration en leptine des échantillons / contrôles non dilués.

11.2 Exemple d'une courbe de calibration typique

Les données et la courbe de calibration fournies à titre d'exemple dans la fig. 1 **ne peuvent pas** être utilisées pour calculer les résultats du test ! Une courbe de calibration doit être établie pour chaque test.

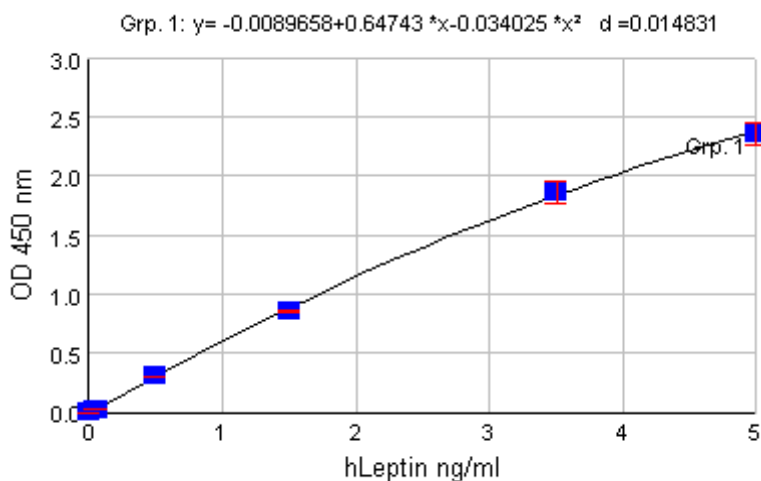


Fig. 1 Exemple d'une courbe de calibration

11.3 Exemple de calcul de la concentration en leptine d'un échantillon dilué au 1:10

- Absorbance mesurée de l'échantillon : 0,293
- Absorbance mesurée de la valeur de blanc : 0,015

À partir de la différence entre l'absorbance de l'échantillon et l'absorbance de la valeur de blanc (= 0,278) , **votre programme d'évaluation calcule** la concentration en leptine de l'échantillon dilué en résolvant l'équation de la Fig. 1 selon x avec l'ajustement de courbe correspondant (ici : polynôme du 2nd degré). Dans ce cas, la concentration en leptine dans l'échantillon dilué est de :

$$0,278 = -0.0089658 + 0.64743x - 0.034025x^2$$
$$0,4524 = x$$

Compte tenu du facteur de dilution de 1:10, l'échantillon contient donc 4,4524 ng/mL de leptine.

11.4 Interprétation des résultats

Les décisions thérapeutiques ne doivent pas être prises sur le seul fondement du résultat de ce test. Les résultats doivent être interprétés en fonction des antécédents médicaux, des observations cliniques supplémentaires et des résultats d'autres examens diagnostiques. Par ailleurs, nous recommandons que chaque laboratoire calcule ses propres plages de référence.

11.5 Limitations

Le Mediagnost Leptin Sensitiv ELISA E077 repose sur des anticorps. Cette technique peut généralement être impactée par la présence d'anticorps hétérophiles ou de facteurs rhumatoïdes dans l'échantillon. Cet impact est réduit grâce à la conception du test, mais ne peut être entièrement exclu.

12 Valeurs de référence

Les concentrations sériques de leptine sont généralement fortement corrélées à la masse grasse corporelle. Les personnes minces présentent généralement un faible taux de leptine, alors que les personnes obèses ont tendance à avoir des niveaux élevés de leptine. En outre, pour un pourcentage donné de masse grasse corporelle, il existe une différence claire entre les sexes, les valeurs étant inférieures pour les hommes et supérieures pour les femmes. La puberté a également une influence sur le taux de leptine. Ces corrélations doivent être prises en compte pour les valeurs attendues de leptine.

Il existe diverses méthodes pour déterminer le pourcentage de graisse corporelle, par exemple le calcul de l'indice de masse corporelle (IMC, poids (en kg) divisé par le carré de la taille (en m), l'estimation de l'impédance bioélectrique (BIA) ou l'absorptiométrie bioénergétique à rayons X (DXA)). Bien que l'estimation par l'IMC de la masse grasse corporelle réelle soit moins précise que celle des méthodes avancées telles que la BIA ou la DXA, l'indication de l'IMC présente plusieurs avantages :

- 1) L'IMC est indépendant des modèles de régression utilisés.
- 2) L'IMC est facile à déterminer, car seule la taille et le poids doivent être indiqués.
- 3) Dans la plupart des cas, l'IMC peut aussi être déterminé rétrospectivement.
- 4) L'IMC est la mesure la plus précise pour des variations à court terme de la masse grasse, par exemple pendant le jeûne.

Par conséquent, les plages attendues suivantes pour les concentrations sériques de leptine ont été établies sur la base de l'IMC comme principale variable indépendante limitante, en tenant compte du sexe et du développement pubertaire (14; voir ci-dessous les figures 2 à 9 et les tableaux 1 à 9). À partir de l'âge de 20 ans, aucune corrélation avec l'âge n'a plus été constatée. Les taux attendus indiqués et classés par sexe et par âge, peuvent être utilisés pour comparer l'IMC du patient avec les taux de leptine mesurés chez des patients normaux, afin de détecter des écarts pathologiques.

Les meilleures régressions pour les différents groupes de personnes (voir figures 2 à 9) sont obtenues avec la fonction exponentielle suivante :

$$\text{Leptine} = a \cdot e^{(b \cdot \text{IMC})}$$

Les 5e et 95e percentiles sont représentés par les équations suivantes :

$$\text{Leptine} = a \cdot e^{(b \cdot \text{IMC} - c)}$$

ou

$$\text{Leptine} = a \cdot e^{(b \cdot \text{IMC} + c)}$$

En cas d'application semi-logarithmique (axe y = log leptine), ces fonctions donnent des droites. Les valeurs pour a, b et c sont indiquées séparément dans le tableau 1, selon le sexe, le développement pubertaire et pour les adultes. Avec ces valeurs, les plages attendues pour la leptine peuvent être légèrement étendues, y compris à des plages d'IMC plus élevées ou plus basses.

Exemple:

Le 50e percentile pour les garçons aux stades de Tanner 3 et 4 est représenté par la courbe suivante:

$$\text{Leptine} = 0,0181 \cdot e^{(0,2067 \cdot \text{IMC})}$$

Le 5e percentile correspond à : $\text{Leptine} = 0,0181 \cdot e^{(0,2067 \cdot \text{IMC} - 1,1919)}$

et le 95e percentile correspond à : $\text{Leptine} = 0,0181 \cdot e^{(0,2067 \cdot \text{IMC} + 1,1919)}$

Dans un graphique semi-logarithmique, ces fonctions correspondent à des droites parallèles équidistantes jusqu'au 50e percentile.

12.1 Calcul de l'écart-type (ET; valeurs Z)

Une méthode adéquate pour déterminer l'écart d'une concentration de leptine mesurée par rapport à la plage de référence correspondante consiste à calculer l'écart-type. Dans ce cas, le taux de leptine mesuré pour un IMC donné de patient sera mis en rapport avec le taux de leptine par sexe et par tranche d'âge. L'écart-type calculé correspond à x fois l'écart-type. En procédant de cette façon, les taux de leptine peuvent être classés par IMC, sexe et développement pubertaire/âge et regroupés pour des analyses complémentaires. Cela permet d'éliminer l'impact de l'IMC, du sexe et de l'âge sur les analyses complémentaires.

En raison de la dépendance logarithmique du taux de leptine, l'ET de la leptine est calculé comme suit :

$$ET \text{ leptine} = \frac{\ln(\text{Leptine}) - \ln(a) - b \cdot \text{IMC}}{d}$$

Dans cette équation, « ln » représente le logarithme naturel (par rapport à la base e). Les valeurs pour a, b et c sont indiquées séparément dans le tableau 1, selon le sexe et l'âge.

Exemple :

Garçon au stade de Tanner 3, IMC = 25 kg/m², concentration en leptine mesurée = 5 ng/mL :

$$ET \text{ leptine} = \frac{\ln(5) - \ln(0,0181) - 0,2067 \cdot 25}{0,6850} = 0,66$$

12.2 Estimation de la dilution optimale de l'échantillon

Les valeurs sériques de leptine variant sur plusieurs ordres de grandeur en fonction de la masse grasse corporelle, une dilution adéquate de l'échantillon est indispensable pour obtenir une précision de mesure élevée. Les échantillons doivent être dilués de telle sorte que les concentrations finales se situent dans la plage de la courbe de calibration. Les plages attendues sont une aide précieuse pour estimer les taux attendus de leptine par rapport à l'IMC, le sexe et l'âge.

Exemple 1

Femme adulte, IMC = 35 kg/m². Selon les plages de référence, le taux de leptine moyen des femmes adultes présentant un IMC de 35 kg/m² est d'environ 50 ng/mL. La dilution optimale serait donc ici de 1:20.

Exemple 2

Garçon prépubère, IMC = 24 kg/m². Selon les plages de référence, le taux de leptine moyen pour des garçons aux stades de Tanner 1 et 2 avec IMC de 24 kg/m² est d'environ 10 ng/mL. La dilution optimale serait donc ici de 1:10.

Tableau 1 Constantes a, b, c et d pour le calcul des plages de référence et écarts-type de leptine basés sur l'IMC. Les groupes de personnes normales en bonne santé ont été classés par âge et stade de développement pubertaire/âge. TS = stade de Tanner, n = nombre de personnes, a, b, c et d = constantes

| Groupe | n | a | b | c | d |
|----------------------|-----|--------|--------|--------|--------|
| Sexe masculin | | | | | |
| TS 1&2 | 136 | 0,0146 | 0,2706 | 0,8821 | 0,5379 |
| TS 3&4 | 50 | 0,0181 | 0,2067 | 1,1919 | 0,6850 |
| TS 5 | 112 | 0,0316 | 0,1462 | 1,0821 | 0,6558 |
| Adultes | 380 | 0,0130 | 0,2200 | 1,1053 | 0,6740 |
| Sexe féminin | | | | | |
| TS 1&2 | 136 | 0,0422 | 0,2499 | 0,7849 | 0,4786 |
| TS 3&4 | 43 | 0,0543 | 0,2357 | 0,5745 | 0,3379 |
| TS 5 | 157 | 0,2550 | 0,1508 | 0,7053 | 0,4301 |
| Adultes | 587 | 0,3042 | 0,1467 | 0,8548 | 0,5212 |

Tableau 2 Filles aux stades de Tanner 1 et 2

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,22 | 0,30 | 0,66 | 1,45 | 1,99 |
| 12 | 0,28 | 0,39 | 0,85 | 1,86 | 2,56 |
| 13 | 0,36 | 0,50 | 1,09 | 2,38 | 3,29 |
| 14 | 0,46 | 0,64 | 1,40 | 3,06 | 4,22 |
| 15 | 0,60 | 0,82 | 1,79 | 3,93 | 5,42 |
| 16 | 0,76 | 1,05 | 2,30 | 5,04 | 6,96 |
| 17 | 0,98 | 1,35 | 2,95 | 6,47 | 8,93 |
| 18 | 1,25 | 1,73 | 3,79 | 8,31 | 11,5 |
| 19 | 1,61 | 2,22 | 4,87 | 10,7 | 14,7 |
| 20 | 2,07 | 2,85 | 6,25 | 13,7 | 18,9 |
| 21 | 2,65 | 3,66 | 8,03 | 17,6 | 24,3 |
| 22 | 3,41 | 4,70 | 10,3 | 22,6 | 31,2 |
| 23 | 4,37 | 6,03 | 13,2 | 29,0 | 40,0 |
| 24 | 5,62 | 7,75 | 17,0 | 37,2 | 51,4 |
| 25 | 7,21 | 9,95 | 21,8 | 47,8 | 65,9 |
| 26 | 9,26 | 12,8 | 28,0 | 61,4 | 84,7 |
| 27 | 11,9 | 16,4 | 35,9 | 78,8 | 109,0 |
| 28 | 15,3 | 21,1 | 46,1 | 101,0 | 140,0 |
| 29 | 19,6 | 27,0 | 59,2 | 130,0 | |
| 30 | 15,2 | 34,7 | 76,1 | | |
| 31 | 32,3 | 44,6 | 97,7 | | |
| 32 | 41,5 | 57,2 | 125,0 | | |
| 33 | 53,2 | 73,4 | | | |
| 34 | 68,4 | 94,3 | | | |
| 35 | 87,8 | 121,0 | | | |
| 36 | 113,0 | | | | |
| 37 | 145,0 | | | | |

Tableau 3 Garçons aux stades de Tanner 1 et 2

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,08 | 0,12 | 0,29 | 0,69 | 0,99 |
| 12 | 0,01 | 0,16 | 0,38 | 0,91 | 1,30 |
| 13 | 0,14 | 0,20 | 0,49 | 1,19 | 1,71 |
| 14 | 0,19 | 0,26 | 0,65 | 1,56 | 2,24 |
| 15 | 0,24 | 0,35 | 0,85 | 2,04 | 2,93 |
| 16 | 0,32 | 0,46 | 1,11 | 2,68 | 3,84 |
| 17 | 0,41 | 0,60 | 1,45 | 3,51 | 5,04 |
| 18 | 0,55 | 0,79 | 1,90 | 4,60 | 6,60 |
| 19 | 0,72 | 1,03 | 2,50 | 6,03 | 8,66 |
| 20 | 0,94 | 1,35 | 3,27 | 7,90 | 11,3 |
| 21 | 1,24 | 1,77 | 4,29 | 10,4 | 14,9 |
| 22 | 1,62 | 2,33 | 5,62 | 13,6 | 19,5 |
| 23 | 2,12 | 3,05 | 7,37 | 17,8 | 25,5 |
| 24 | 2,78 | 3,99 | 9,66 | 23,3 | 33,5 |
| 25 | 3,65 | 5,24 | 12,7 | 30,6 | 43,9 |
| 26 | 7,78 | 6,87 | 16,9 | 40,1 | 57,5 |
| 27 | 6,27 | 9,0 | 21,7 | 52,5 | 75,4 |
| 28 | 8,22 | 11,8 | 28,5 | 68,9 | 98,8 |
| 29 | 10,7 | 15,5 | 37,4 | 90,3 | 129,0 |
| 30 | 14,1 | 20,3 | 48,9 | 118,0 | |
| 31 | 18,5 | 26,6 | 64,2 | | |
| 32 | 24,3 | 34,8 | 84,1 | | |
| 33 | 31,8 | 45,6 | 110,0 | | |
| 34 | 41,7 | 59,8 | 144,0 | | |
| 35 | 54,6 | 78,4 | | | |
| 36 | 71,6 | 102,0 | | | |
| 37 | 93,9 | 134,0 | | | |
| 38 | 123,0 | | | | |

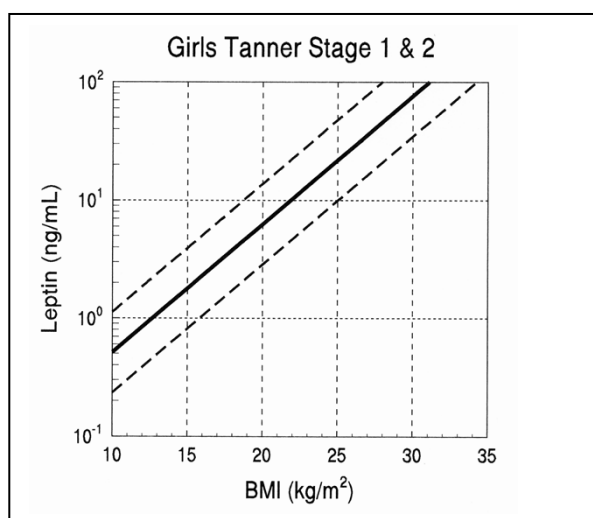


Fig. 2 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Filles aux stades de Tanner 1 + 2 (voir texte).

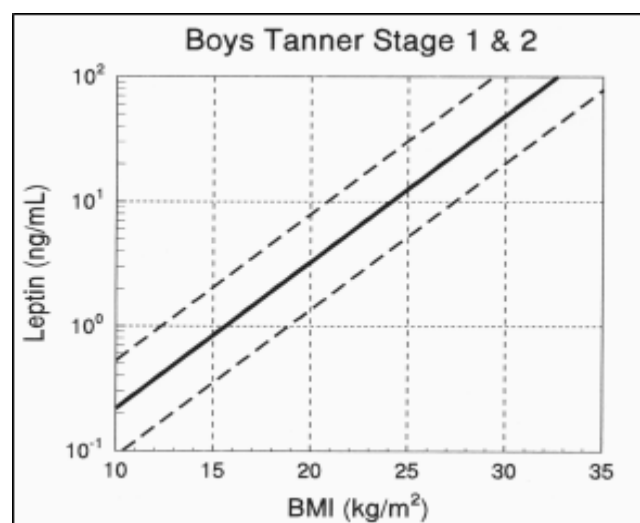


Fig. 3 Plages de référence pour les concentrations de sérum humain rapportées à l'IMC : Garçons aux stades de Tanner 1 + 2 (voir texte).

Tableau 4 Filles aux stades de Tanner 3 et 4

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|-------|-------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,32 | 0,41 | 0,73 | 1,29 | 1,63 |
| 12 | 0,41 | 0,52 | 0,92 | 1,63 | 2,06 |
| 13 | 0,52 | 0,66 | 1,16 | 2,07 | 2,61 |
| 14 | 0,65 | 0,83 | 1,47 | 2,61 | 3,31 |
| 15 | 0,83 | 1,05 | 1,87 | 3,31 | 4,19 |
| 16 | 1,05 | 1,33 | 2,36 | 4,19 | 5,30 |
| 17 | 1,33 | 1,68 | 2,99 | 5,30 | 6,71 |
| 18 | 1,68 | 2,13 | 3,78 | 6,71 | 8,49 |
| 19 | 2,13 | 2,69 | 4,79 | 8,5 | 10,8 |
| 20 | 2,69 | 3,41 | 6,06 | 10,7 | 13,6 |
| 21 | 3,41 | 4,31 | 7,67 | 13,61 | 17,2 |
| 22 | 4,32 | 5,46 | 9,71 | 17,2 | 21,8 |
| 23 | 5,46 | 6,91 | 12,3 | 21,8 | 27,6 |
| 24 | 6,91 | 8,75 | 15,6 | 27,6 | 34,9 |
| 25 | 8,75 | 11,1 | 19,7 | 34,9 | 44,2 |
| 26 | 11,1 | 14,0 | 24,9 | 44,2 | 56,0 |
| 27 | 14,0 | 17,7 | 31,6 | 56,0 | 70,9 |
| 28 | 17,8 | 22,5 | 39,9 | 70,9 | 89,7 |
| 29 | 22,5 | 28,4 | 50,5 | 89,7 | 114,0 |
| 30 | 28,4 | 36,0 | 63,9 | 114,0 | 144,0 |
| 31 | 36,0 | 45,6 | 80,9 | 144,0 | |
| 32 | 45,6 | 57,7 | 80,2 | 144,0 | |
| 33 | 57,7 | 73,0 | 102,0 | | |
| 34 | 73,0 | 92,4 | 130,0 | | |
| 35 | 92,4 | 117,0 | | | |
| 36 | 117,0 | 148,0 | | | |
| 37 | 148,0 | | | | |

Tableau 5 Garçons aux stades de Tanner 3 et 4

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|------|------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,03 | 0,05 | 0,18 | 0,58 | 0,94 |
| 12 | 0,04 | 0,07 | 0,22 | 0,71 | 1,16 |
| 13 | 0,49 | 0,08 | 0,27 | 0,88 | 1,43 |
| 14 | 0,06 | 0,10 | 0,33 | 1,08 | 1,75 |
| 15 | 0,07 | 0,12 | 0,40 | 1,32 | 2,16 |
| 16 | 0,09 | 0,15 | 0,49 | 1,63 | 2,65 |
| 17 | 0,11 | 0,18 | 0,61 | 2,00 | 3,26 |
| 18 | 0,14 | 0,23 | 0,75 | 2,46 | 4,01 |
| 19 | 0,17 | 0,28 | 0,92 | 3,03 | 4,93 |
| 20 | 0,21 | 0,34 | 1,13 | 3,72 | 6,06 |
| 21 | 0,26 | 0,42 | 1,39 | 4,58 | 7,46 |
| 22 | 0,32 | 0,52 | 1,71 | 5,63 | 9,17 |
| 23 | 0,39 | 0,64 | 2,10 | 6,92 | 11,3 |
| 24 | 0,48 | 0,78 | 2,58 | 8,51 | 13,9 |
| 25 | 0,59 | 0,96 | 3,18 | 10,5 | 17,0 |
| 26 | 0,73 | 1,19 | 3,91 | 12,9 | 21,0 |
| 27 | 0,89 | 1,46 | 4,80 | 15,8 | 25,8 |
| 28 | 1,10 | 1,79 | 5,90 | 19,4 | 31,7 |
| 29 | 1,35 | 2,20 | 7,26 | 23,9 | 39,0 |
| 30 | 1,66 | 2,71 | 8,93 | 29,4 | 48,0 |
| 31 | 2,05 | 3,33 | 11,0 | 36,2 | 58,9 |
| 32 | 2,51 | 4,09 | 13,5 | 44,5 | 72,4 |
| 33 | 3,09 | 5,04 | 16,6 | 54,7 | 89,1 |
| 34 | 3,80 | 6,20 | 20,4 | 67,2 | 109,0 |
| 35 | 4,68 | 7,62 | 25,1 | 82,6 | 134,0 |
| 36 | 5,75 | 9,37 | 30,9 | 101,0 | |
| 37 | 7,07 | 11,5 | 37,9 | 124,0 | |
| 38 | 8,7 | 14,2 | 46,7 | | |
| 39 | 10,7 | 17,4 | 57,4 | | |
| 40 | 13,1 | 21,4 | 70,5 | | |

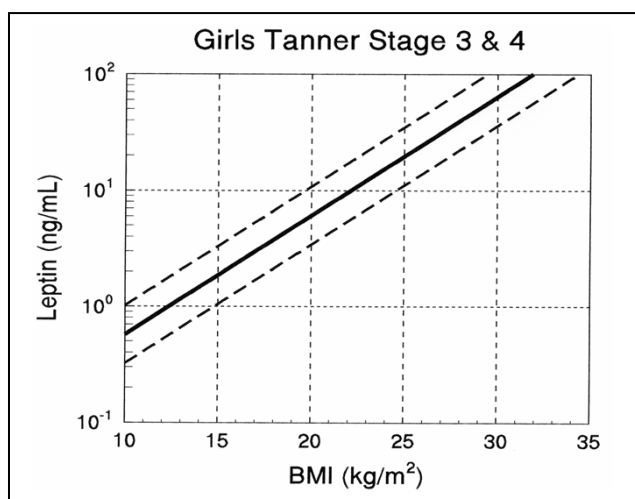


Fig. 4 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Filles aux stades de Tanner 3 + 4 (voir texte).

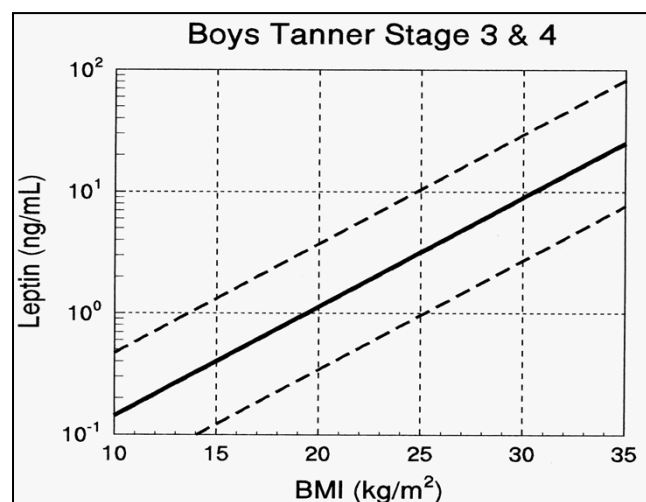


Fig. 5 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Garçons aux stades de Tanner 3 + 4 (voir texte).

Tableau 6 Filles au stade de Tanner 5

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|------|-------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,50 | 0,66 | 1,34 | 2,71 | 3,62 |
| 12 | 0,58 | 0,77 | 1,56 | 3,15 | 4,21 |
| 13 | 0,67 | 0,89 | 1,81 | 3,67 | 4,89 |
| 14 | 0,78 | 1,04 | 2,11 | 4,26 | 5,69 |
| 15 | 0,91 | 1,21 | 2,45 | 4,96 | 6,62 |
| 16 | 1,05 | 1,41 | 2,85 | 5,76 | 7,70 |
| 17 | 1,22 | 1,64 | 3,31 | 6,70 | 8,95 |
| 18 | 1,42 | 1,90 | 3,85 | 7,79 | 10,4 |
| 19 | 1,66 | 2,21 | 4,48 | 9,06 | 12,1 |
| 20 | 1,93 | 2,57 | 5,20 | 10,5 | 14,1 |
| 21 | 2,24 | 2,99 | 6,05 | 12,3 | 16,4 |
| 22 | 2,60 | 3,48 | 7,03 | 14,2 | 19,0 |
| 23 | 3,03 | 4,04 | 8,18 | 16,6 | 22,1 |
| 24 | 3,52 | 4,70 | 9,51 | 19,3 | 25,7 |
| 25 | 4,09 | 5,46 | 11,0 | 22,4 | 29,9 |
| 26 | 4,76 | 6,35 | 12,9 | 26,0 | 34,8 |
| 27 | 5,53 | 7,39 | 15,0 | 30,3 | 40,4 |
| 28 | 6,43 | 8,59 | 17,39 | 35,2 | 47,0 |
| 29 | 7,48 | 9,99 | 20,2 | 40,9 | 54,7 |
| 30 | 8,70 | 11,6 | 23,5 | 47,6 | 63,5 |
| 31 | 10,1 | 13,5 | 27,3 | 55,3 | 73,9 |
| 32 | 11,8 | 15,7 | 31,8 | 64,4 | 85,9 |
| 33 | 13,7 | 18,3 | 37,0 | 74,9 | 99,9 |
| 34 | 15,9 | 21,2 | 43,0 | 87,0 | 116,0 |
| 35 | 18,5 | 24,7 | 50,0 | 101,0 | 135,0 |
| 36 | 21,5 | 28,7 | 58,1 | 118,0 | |
| 37 | 25,0 | 33,4 | 67,6 | 137,0 | |
| 38 | 29,1 | 38,8 | 78,6 | | |
| 39 | 33,8 | 45,1 | 91,4 | | |
| 40 | 39,4 | 52,5 | 106,0 | | |

Tableau 7 Garçons au stade de Tanner 5

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|------|------|------|------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,03 | 0,05 | 0,16 | 0,47 | 0,73 |
| 12 | 0,04 | 0,06 | 0,18 | 0,54 | 0,84 |
| 13 | 0,05 | 0,07 | 0,21 | 0,62 | 0,97 |
| 14 | 0,05 | 0,08 | 0,24 | 0,72 | 1,12 |
| 15 | 0,06 | 0,10 | 0,28 | 0,84 | 1,30 |
| 16 | 0,07 | 0,11 | 0,33 | 0,97 | 1,51 |
| 17 | 0,08 | 0,13 | 0,38 | 1,12 | 1,74 |
| 18 | 0,1 | 0,15 | 0,44 | 1,3 | 2,02 |
| 19 | 0,11 | 0,17 | 0,51 | 1,50 | 2,34 |
| 20 | 0,13 | 0,2 | 0,59 | 1,74 | 2,7 |
| 21 | 0,15 | 0,23 | 0,68 | 2,01 | 3,13 |
| 22 | 0,17 | 0,27 | 0,79 | 2,33 | 3,62 |
| 23 | 0,20 | 0,31 | 0,91 | 2,69 | 4,19 |
| 24 | 0,23 | 0,36 | 1,05 | 3,12 | 4,85 |
| 25 | 0,27 | 0,41 | 1,22 | 3,61 | 5,62 |
| 26 | 0,31 | 0,48 | 1,41 | 4,17 | 6,5 |
| 27 | 0,36 | 0,55 | 1,63 | 4,83 | 7,52 |
| 28 | 0,41 | 0,64 | 1,89 | 5,59 | 8,71 |
| 29 | 0,48 | 0,74 | 2,19 | 6,47 | 10,1 |
| 30 | 0,55 | 0,86 | 2,54 | 7,49 | 11,7 |
| 31 | 0,64 | 1,00 | 2,94 | 8,67 | 13,5 |
| 32 | 0,74 | 1,15 | 3,4 | 10,0 | 15,6 |
| 33 | 0,86 | 1,33 | 3,94 | 11,6 | 18,1 |
| 34 | 0,99 | 1,54 | 4,55 | 13,4 | 20,9 |
| 35 | 1,15 | 1,79 | 5,27 | 15,6 | 24,2 |
| 36 | 1,33 | 2,07 | 6,10 | 18,0 | 28,1 |
| 37 | 1,54 | 2,39 | 7,06 | 20,8 | 32,5 |
| 38 | 1,78 | 2,77 | 8,17 | 24,1 | 37,6 |
| 39 | 2,06 | 3,21 | 9,46 | 27,9 | 43,5 |
| 40 | 2,38 | 3,71 | 10,9 | 32,3 | 50,3 |

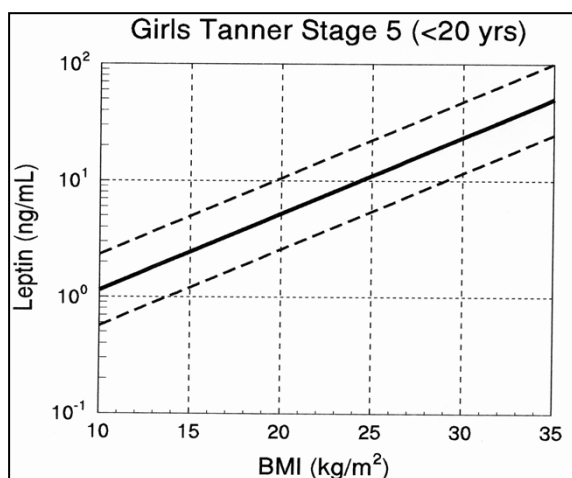


Fig. 6 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Filles au stade de Tanner 5 (voir texte).

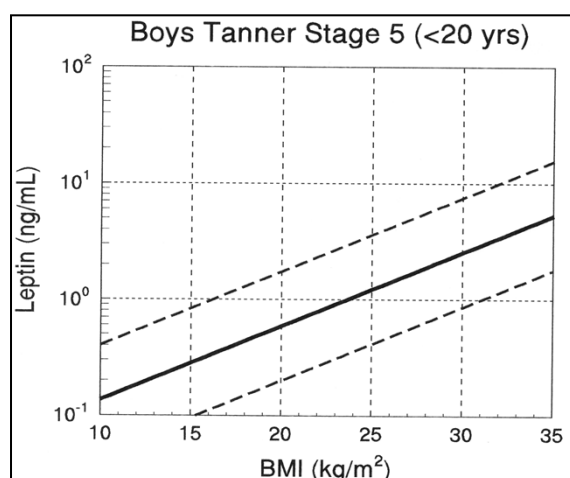


Fig. 7 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Garçons au stade de Tanner 5 (voir texte).

Tableau 8 Femmes

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|------|-------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,46 | 0,65 | 1,53 | 3,59 | 5,10 |
| 12 | 0,53 | 0,75 | 1,77 | 4,16 | 5,90 |
| 13 | 0,61 | 0,87 | 2,05 | 4,82 | 6,83 |
| 14 | 0,71 | 1,01 | 2,37 | 5,58 | 7,91 |
| 15 | 7,82 | 1,17 | 2,75 | 6,46 | 9,17 |
| 16 | 0,95 | 1,35 | 3,18 | 7,48 | 10,61 |
| 17 | 1,10 | 1,57 | 3,68 | 8,66 | 12,3 |
| 18 | 1,28 | 1,81 | 4,27 | 10,0 | 14,2 |
| 19 | 1,48 | 2,10 | 4,94 | 11,6 | 16,5 |
| 20 | 1,71 | 2,43 | 5,72 | 13,4 | 19,1 |
| 21 | 1,99 | 2,82 | 6,62 | 15,6 | 22,1 |
| 22 | 2,30 | 3,26 | 7,67 | 18,0 | 25,6 |
| 23 | 2,66 | 3,78 | 8,88 | 20,9 | 29,3 |
| 24 | 3,08 | 4,38 | 10,3 | 24,2 | 34,3 |
| 25 | 3,57 | 5,07 | 11,9 | 28,0 | 39,7 |
| 26 | 4,13 | 5,87 | 13,8 | 32,4 | 46,0 |
| 27 | 4,79 | 6,79 | 16,0 | 37,5 | 53,3 |
| 28 | 5,54 | 7,87 | 18,5 | 43,5 | 61,7 |
| 29 | 6,42 | 9,11 | 21,4 | 50,4 | 71,5 |
| 30 | 7,43 | 10,6 | 24,8 | 58,3 | 82,8 |
| 31 | 8,61 | 12,2 | 28,7 | 67,5 | 95,8 |
| 32 | 9,97 | 14,1 | 33,3 | 78,2 | 111,0 |
| 33 | 11,5 | 16,4 | 38,5 | 90,5 | 129,0 |
| 34 | 13,4 | 19,0 | 44,6 | 105,0 | 149,0 |
| 35 | 15,5 | 22,0 | 51,6 | 121,0 | |
| 36 | 17,9 | 25,4 | 59,8 | 141,0 | |
| 37 | 20,8 | 29,5 | 69,3 | | |
| 38 | 24,0 | 34,1 | 80,2 | | |
| 39 | 27,8 | 39,5 | 92,9 | | |
| 40 | 32,2 | 45,7 | 108,0 | | |

Tableau 9 Hommes

| IMC (kg/m ²) | Percentile (µg/L) | | | | |
|--------------------------|-------------------|------|------|-------|-------|
| | 1 | 5 | 50 | 95 | 99 |
| 11 | 0,03 | 0,05 | 0,15 | 0,44 | 0,69 |
| 12 | 0,04 | 0,06 | 0,18 | 0,55 | 0,87 |
| 13 | 0,05 | 0,08 | 0,23 | 0,69 | 1,08 |
| 14 | 0,06 | 0,09 | 0,28 | 0,85 | 1,34 |
| 15 | 0,07 | 0,12 | 0,35 | 1,06 | 1,67 |
| 16 | 0,09 | 0,15 | 0,44 | 1,33 | 2,09 |
| 17 | 0,12 | 0,18 | 0,55 | 1,65 | 2,60 |
| 18 | 0,14 | 0,23 | 0,68 | 2,06 | 3,24 |
| 19 | 0,18 | 0,28 | 0,85 | 2,57 | 4,04 |
| 20 | 0,22 | 0,35 | 1,06 | 3,20 | 5,03 |
| 21 | 0,23 | 0,44 | 1,32 | 3,98 | 6,27 |
| 22 | 0,35 | 0,54 | 1,64 | 4,97 | 7,81 |
| 23 | 0,43 | 0,78 | 2,05 | 6,19 | 9,73 |
| 24 | 0,54 | 0,85 | 2,55 | 7,71 | 12,1 |
| 25 | 0,67 | 1,05 | 3,18 | 9,61 | 15,1 |
| 26 | 0,83 | 1,31 | 3,96 | 12,0 | 18,8 |
| 27 | 1,04 | 1,64 | 4,94 | 14,9 | 23,5 |
| 28 | 1,30 | 2,04 | 6,15 | 18,6 | 29,2 |
| 29 | 1,61 | 2,54 | 7,67 | 23,2 | 36,4 |
| 30 | 2,01 | 3,16 | 9,56 | 28,9 | 45,4 |
| 31 | 2,51 | 3,94 | 11,9 | 36,0 | 56,6 |
| 32 | 3,12 | 4,91 | 14,8 | 44,9 | 70,5 |
| 33 | 3,89 | 6,12 | 18,5 | 55,8 | 87,8 |
| 34 | 4,85 | 7,63 | 23,0 | 69,6 | 109,0 |
| 35 | 6,04 | 9,51 | 28,7 | 86,7 | 136,0 |
| 36 | 7,53 | 11,8 | 35,8 | 108,0 | |
| 37 | 9,38 | 14,8 | 44,6 | 135,0 | |
| 38 | 11,7 | 18,4 | 55,5 | | |
| 39 | 14,6 | 22,9 | 69,2 | | |
| 40 | 18,2 | 28,6 | 86,2 | | |

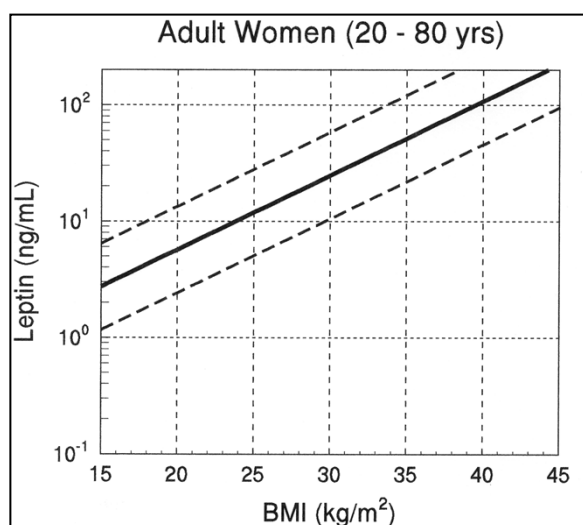


Fig. 8 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Femmes (voir texte).

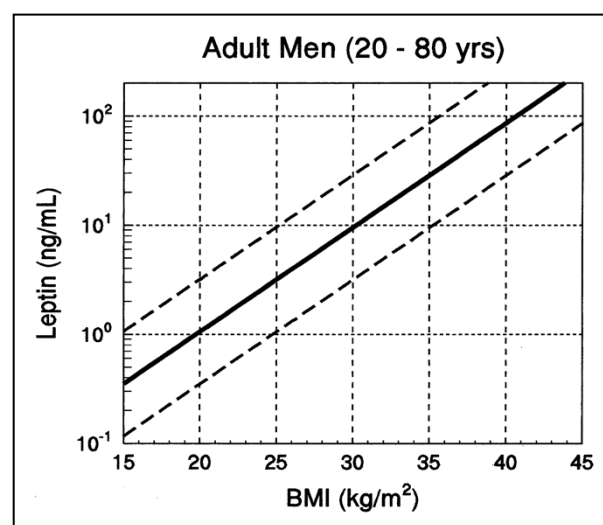


Fig. 9 Plages de référence pour les concentrations en sérum humain rapportées à l'IMC : Hommes (voir texte).

13 Propriétés du test et validation

13.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique de Leptin Sensitiv ELISA E077 est de 0,01 ng/mL (valeur de blanc plus deux fois l'écart-type de la valeur de blanc).

13.2 Récupération et exactitude

De la leptine recombinante (OMS/NIBSC IS 97/594 ; 15,16) a été ajoutée au tampon de dilution **DIL** et aux échantillons de sérum. La teneur en leptine des échantillons ainsi enrichis a été mesurée et la récupération relative calculée. Les résultats sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10 Récupération relative de leptine OMS/NIBSC 97/594 dans des échantillons de sérum [%]

| Leptine ajoutée [ng/mL] | 5 | 10 | 15 |
|-------------------------|-----|-----|-----|
| Échantillon 1 | 109 | 108 | 108 |
| Échantillon 2 | 108 | 104 | 109 |
| Échantillon 3 | 105 | 102 | 85 |

13.3 Précision

Les coefficients de variation inter- et intra-dosages sont tous deux nettement inférieurs à 10 %. Les déterminations fournies à titre d'exemple sont présentées dans les tableaux 11 et 12.

Tableau 11 Variance inter-dosages

| | Moyenne [ng/mL] | Écart-type [ng/mL] | CV [%] |
|---------------|-----------------|--------------------|--------|
| Échantillon 1 | 2,04 | 0,147 | 7,2 |
| Échantillon 2 | 6,93 | 0,423 | 6,1 |
| Échantillon 3 | 14,86 | 1,11 | 7,5 |

Tableau 12 Variance intra-dosages

| | Moyenne [ng/mL] | Écart-type [ng/mL] | CV [%] |
|---------------|-----------------|--------------------|--------|
| Échantillon 1 | 22,44 | 1,28 | 4,35 |
| Échantillon 2 | 4,1 | 0,108 | 2,63 |

13.4 Linéarité

Les dilutions de 1:5 à 1:320 sont été testées avec quatre échantillons de sérum, les niveaux de leptine mesurés sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13 Dilutions d'échantillons de sérum de 1:5 à 1:320

| Dilution | Échantillon A [ng/mL] | Échantillon B [ng/mL] | Échantillon C [ng/mL] | Échantillon D [ng/mL] |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1:5 | 10 | 26 | - | 23 |
| 1:8 | 10 | 25 | 39 | 25 |
| 1:10 | 11 | 26 | 36 | 26 |
| 1:20 | 11 | 28 | 37 | 28 |
| 1:40 | 11 | 29 | 39 | 29 |
| 1:80 | 12 | 29 | 41 | 30 |
| 1:160 | 10 | 30 | 40 | 31 |
| 1:320 | 11 | 27 | 37 | 30 |

13.5 Interférence

L'interférence de l'hémoglobine, de la bilirubine et des triglycérides avec la détermination du taux de leptine a été testée en ajoutant différentes quantités de ces substances à des échantillons de sérum humain. Les mesures du tableau 14 montrent que ni la bilirubine, ni les triglycérides, ni l'hémoglobine aux concentrations maximales indiquées n'ont eu d'impact sur la mesure de la leptine dans le sérum humain.

Tableau 14 Interférences. La quantité relative de leptine mesurée par rapport à la leptine ajoutée au sérum natif est indiquée ici [%]

| | Triglycérides 100 mg/mL | Bilirubine 200 µg/mL | Hémoglobine 1 mg/mL |
|----------------------|------------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Échantillon 1 | 95 | 101 | 94 |
| Échantillon 2 | 107 | 105 | 105 |
| Échantillon 3 | 111 | 101 | 101 |

14 Références

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. 1994 Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 372:425-432.
2. Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, et al. 1995 Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science*. 269:543-546.
3. MacDougald OA, Hwang CS, Fan H, Lane MD. 1995 Regulated expression of the obese gene product (leptin) in white adipose tissue and 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 92:9034-9037.
4. Rentsch J, Chiesi M. 1996 Regulation of ob gene mRNA levels in cultured adipocytes. *FEBS Lett*. 379:55-59.
5. Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, et al. 1996 Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes*. 45:1435-1438.
6. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, et al. 1995 The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*. 377:530-532.
7. Campfield LA, Smith FJ, Guisez Y, Devos R, Burn P. 1995 Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks. *Science*. 269:546-549.
8. Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, et al. 1995 Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science*. 269:540-543.
9. Levin N, Nelson C, Gurney A, Vandlen R, de-Sauvage F. 1996 Decreased food intake does not completely account for adiposity reduction after ob protein infusion. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 93:1726-1730.
10. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, et al. 1996 Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest*. 97:1344-1347.
11. Havel PJ, Kasim-Karakas S, Dubuc GR, Mueller W, Phinney SD. 1996 Gender difference in plasma leptin concentrations. *Nature Med*. 2:949-950.
12. Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, et al. 1996 Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab*. 81:3424-3427.
13. Hassink SG, Sheslow DV, de Lancey E, Opentanova I, Considine RV, Caro JF 1996 Serum leptin in children with obesity: relationship to gender and development. *Pediatrics*. 98:201-203.
14. Blum WF, Juul A; Reference ranges of serum leptin, s.318-326. In: *Leptin -the voice of adipose tissue*, Blum WF et al, eds., Johann Ambrosius Verlag, Heidelberg, 1997.
15. Robinson CJ, Gaines-Das R, Woollacott D, et al. 2001 The first international standard for human leptin and the first international standard for mouse leptin: comparison of candidate preparations by in vitro bioassays and immunoassays. *J Molecular Endocrinol*. 27: 69-76.
16. Adresse NIBSC: Blanche Lane, South Mimms, Potters Bar, Hertfordshire EN6 3QG, Great Britain; <https://www.nibsc.org>