



**KIT DE DOSAGE IMMUNO-ENZYMATIQUE (EIA)**  
de  
**L'ŒSTRIOL SALIVAIRE**  
**ultrasensible**



Pour diagnostic *in vitro*

Référence catalogue 1-2812, kit de 96 puits (kit unique) ;  
1-2812-5, 480 puits (boîte de 5)



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) • [salimetrics.com](http://salimetrics.com)

## TABLE DES MATIÈRES

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Utilisation prévue .....                                                  | 3  |
| Introduction .....                                                        | 3  |
| Principe du test .....                                                    | 4  |
| Précautions de sécurité .....                                             | 4  |
| Informations générales concernant l'utilisation du kit .....              | 5  |
| Stockage .....                                                            | 5  |
| Recueil de l'échantillon .....                                            | 6  |
| Manipulation et préparation des échantillons .....                        | 6  |
| Matériel fourni avec le kit unique .....                                  | 7  |
| Matériel nécessaire non fourni .....                                      | 8  |
| Préparation des réactifs .....                                            | 9  |
| Procédure .....                                                           | 11 |
| Contrôle qualité .....                                                    | 13 |
| Calculs .....                                                             | 13 |
| Résultats attendus .....                                                  | 14 |
| Limites .....                                                             | 15 |
| Exemples de gammes de concentrations de l'œstriol salivaire .....         | 15 |
| Caractéristiques de performance du kit d'EIA de l'œstriol salivaire ..... | 16 |
| Références .....                                                          | 18 |
| Garantie limitée du vendeur .....                                         | 19 |



## Utilisations prévues

Le kit de dosage immuno-enzymatique de l'œstriol ultrasensible de Salimetrics® est un test d'immunodosage compétitif spécifiquement conçu et validé pour la mesure quantitative *in vitro* de l'œstriol salivaire. L'œstriol salivaire reflète de façon précise la quantité d'œstriol sérique dans la circulation (1). L'utilisation de ce kit avec des échantillons sériques ou plasmatiques n'est pas validée par Salimetrics.

***Veuillez lire la notice du kit dans son intégralité avant de réaliser le test. Tout non-respect de la procédure et des recommandations relatives au prélèvement salivaire et à la manipulation des échantillons pourrait entraîner des résultats inexacts.***

Pour plus d'informations sur ce kit, son utilisation ou les procédures décrites dans cette notice, contactez le service technique de Salimetrics ou votre représentant commercial local.

## Introduction

L'œstriol (1,3,5(10)-estratriène-3,16 $\alpha$ ,17 $\beta$ -triol ; E3) est une hormone féminine de la classe des stéroïdes sexuels liée en grande partie à la grossesse et au développement fœtal. La DHEA-S sécrétée par la surrénale fœtale est métabolisée dans le foie du fœtus en 16-OH-DHEA-S qui est à son tour convertie en œstriol dans le placenta. À l'approche du terme d'une grossesse humaine normale, le fœtus produit 90 % de la 16-OH-DHEA-S. Les taux d'œstriol circulant chez la mère augmentent progressivement durant la grossesse pour atteindre son maximum au cours du troisième trimestre (2).

Les rôles physiologiques de l'œstriol chez les femmes non enceintes ne sont pas totalement élucidés et font l'objet d'étude, en particulier dans les domaines du vieillissement et de la santé après la ménopause. Il est généralement admis que l'œstriol a une activité œstrogénique moins puissante que l'œstradiol et l'œstrone. Il a toutefois été souligné que l'œstriol est un œstrogène puissant en ce qui concerne les voies de signalisation non génomiques et les réponses fonctionnelles dans l'hypophyse (3).

Dans le sang, la majeure partie de l'œstriol est liée à des protéines sériques, la forme libre représentant environ 14 à 16 % (4). L'œstriol passe du sang à la salive par des mécanismes intracellulaires, et la corrélation entre les échantillons sériques et salivaires est hautement significative (1).



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

## Principe du test

Il s'agit d'un kit d'immunodosage compétitif. L'œstriol présent dans les étalons et dans les échantillons entre en compétition avec l'œstriol conjugué à la peroxydase de raifort pour les sites de liaison des anticorps sur une plaque de microtitration. Après incubation, les composants non liés sont éliminés par lavage. Le conjugué enzymatique lié de l'œstriol est mesuré par la réaction de l'enzyme (la peroxydase de raifort) au substrat (le tétraméthylbenzidine [TMB]). Cette réaction produit une coloration bleue. Une coloration jaune se produit après arrêt de la réaction à l'aide d'une solution acide. La densité optique est lue sur un lecteur de plaques standard à 450 nm. La quantité de conjugué enzymatique de l'œstriol détectée est inversement proportionnelle à la quantité d'œstriol présente dans l'échantillon (5).

## Précautions de sécurité

**Lire les fiches de données de sécurité avant de manipuler les réactifs.**

### ***Ingrédients dangereux***

La solution d'arrêt est corrosive. Utiliser avec précaution. Nous recommandons de suivre les procédures suivantes pour tous les réactifs du kit.

### ***Manipulation***

Respecter les bonnes pratiques de laboratoire lors de la manipulation des réactifs du kit. Le port d'une blouse de laboratoire, de gants et de lunettes de protection est recommandé. Essuyer les liquides renversés à l'aide d'un matériau absorbant en portant des vêtements de protection. Respecter la réglementation locale concernant l'élimination.

### ***Mesures d'urgence en cas d'exposition***

En cas de contact, rincer immédiatement la peau ou les yeux à l'eau pendant 15 minutes. Retirer les vêtements contaminés. En cas d'inhalation, faire respirer de l'air frais. Si la personne présente des difficultés respiratoires, appeler un médecin.

Les informations ci-dessus sont jugées exactes mais ne sont pas exhaustives. Elles sont fournies uniquement à titre indicatif. La responsabilité de Salimetrics ne saurait être engagée en cas d'accident ou de dommage résultant d'une mauvaise utilisation du produit.

Les **fiches de données de sécurité** sont disponibles sur demande auprès de Salimetrics à l'adresse [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) (consulter le site [www.salimetrics.com](http://www.salimetrics.com) pour connaître les autres options de contact).



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) • [salimetrics.com](http://salimetrics.com)

## Informations générales concernant l'utilisation du kit

- Le kit contient des barrettes de microtitration sécables. Il est possible de ne pas utiliser tous les puits de la plaque. Les puits inutilisés doivent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C dans le sachet avec le dessiccant et doivent être utilisés dans le cadre fourni.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs lorsqu'ils sont entamés. Salimetrics recommande d'utiliser les réactifs entamés dans un délai d'un mois. Conserver tous les réactifs à une température comprise entre 2 et 8 °C.
- La quantité de réactif fournie dans le kit unique est suffisante pour trois analyses partielles. Si tous les puits de la plaque ne sont pas utilisés, les volumes de tampon de lavage et de conjugué enzymatique préparés doivent être réduits en conséquence, en conservant le même rapport de dilution.
- Ne pas mélanger les composants de différents lots de kits.
- Pour garantir une qualité optimale des résultats du test, le pipetage des échantillons et des réactifs doit se faire le plus rapidement possible (sans interruption) d'un bout à l'autre de la plaque. Idéalement, ce processus ne doit pas prendre plus de 20 minutes.
- Si une pipette multicanaux est utilisée pour le transfert des réactifs, veiller à toujours ajouter les réactifs dans le même ordre afin que le temps d'incubation soit le même pour tous les puits.
- Si plusieurs plaques ou jeux de barrettes sont analysés, une courbe d'étalonnage doit être établie pour chaque plaque et/ou jeu de barrettes.
- La température du laboratoire peut avoir une incidence sur les analyses. Les kits Salimetrics sont validés à une température comprise entre 20 et 23,3 °C. Une température inférieure ou supérieure peut influencer les valeurs de densité optique.
- L'étalonnage de routine des pipettes et autre matériel est essentiel pour une performance optimale du test.
- Lors de l'agitation des plaques durant les procédures du test, éviter les vitesses entraînant un déversement du contenu des puits.
- Nous recommandons de conserver tous les réactifs jusqu'à ce que l'analyse des données confirme le succès du test, pour faciliter la résolution des éventuels problèmes.
- Avant d'ajouter l'échantillon, étiqueter chaque barrette pour garantir la bonne orientation de la plaque et le bon ordre des échantillons lors de l'acquisition des données sur le lecteur de plaques.

## Stockage

Avant ouverture, tous les composants du kit sont stables à une température comprise entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption du kit.



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) • [salimetrics.com](http://salimetrics.com)

## Recueil de l'échantillon

Éviter de prélever l'échantillon dans les 60 minutes suivant la prise d'un repas et dans les 12 heures suivant la consommation d'alcool. Les aliments acides ou à forte teneur en sucre peuvent compromettre la performance du test car ils diminuent le pH de l'échantillon et influencent le développement des bactéries. Afin de limiter l'impact de ces facteurs, le donneur doit se rincer soigneusement la bouche à l'eau 10 minutes avant le recueil de l'échantillon.

Recueillir la salive totale par salivation passive non stimulée. Le donneur peut pencher la tête en avant afin que la salive s'écoule sur le plancher buccal jusque dans le tube en polypropylène en passant à travers le dispositif de recueil SalivaBio. Les protocoles/méthodes de recueil sont disponibles en ligne à l'adresse [www.salimetrics.com](http://www.salimetrics.com) ou sur simple demande.

En cas d'échantillon manifestement contaminé par du sang, un nouveau recueil est nécessaire. Une éventuelle contamination des échantillons par le sang peut être recherchée (6,7) à l'aide de notre kit d'EIA de contamination sanguine (références catalogue 1-1302/1-1302-5). Les bandelettes peuvent donner des résultats faux positifs en raison des enzymes salivaires et ne doivent pas être utilisées.

Il est important de noter la date et l'heure de recueil de l'échantillon.

## Manipulation et préparation des échantillons

Après le recueil, il est important de conserver l'échantillon au froid pour éviter toute prolifération bactérienne. Placer l'échantillon au réfrigérateur dans les 30 minutes suivant le recueil, puis le congeler à une température inférieure ou égale à -20 °C dans les 4 heures suivant le recueil. (Les échantillons peuvent être conservés à -20 °C pendant 6 mois.) En cas de stockage à long terme, consulter le livret d'informations de Salimetrics sur le prélèvement et la manipulation des échantillons (*Collection and Handling Advice Booklet*).

***Ne pas ajouter d'azote de sodium (conservateur) aux échantillons de salive car cela pourrait fausser l'immunodosage.***

Le jour de l'analyse, décongeler complètement les échantillons de salive, les passer au vortex puis les centrifuger à 1 500 g pendant 15 minutes. La congélation des échantillons de salive entraîne la précipitation des mucines. La centrifugation élimine les mucines et autres particules susceptibles de perturber la liaison aux anticorps et de fausser les résultats. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant d'être transférés dans les puits ou d'être dilués. Pipeter la salive claire dans les puits appropriés ou dans les tubes pour dilution. Recongeler les échantillons de salive dès que possible après la réalisation de l'analyse. Recentrifuger les échantillons à chaque décongélation. Éviter les cycles de congélation/décongélation répétés.

Les échantillons de salive doivent être prédilués deux fois pour cette analyse. Pour plus d'informations, voir la section *Procédure*.



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) • [salimetrics.com](http://salimetrics.com)

## Matériel fourni avec le kit unique

|    | Article                                                                                                                                                                                                                                                                                       | Quantité/taille             |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 1  | <b>Plaque de microtitration</b><br>Enduite d'anticorps de lapin anti-œstriol.                                                                                                                                                                                                                 | 1/96 puits                  |
| 2  | <b>Étalon d'œstriol</b><br>4 860 pg/mL dans une matrice salivaire. L'étalon nécessite une dilution supplémentaire. (Pour plus d'informations, voir la section <i>Procédure</i> .)<br>Contient : œstriol, tampon, conservateur.                                                                | 1 flacon/500 µL             |
| 3  | <b>Contrôles d'œstriol</b><br>Concentration élevée (Ctrl-H), concentration faible (Ctrl-L), dans une matrice salivaire.<br>Les contrôles nécessitent une dilution supplémentaire. (Pour plus d'informations, voir la section <i>Procédure</i> .)<br>Contient : œstriol, tampon, conservateur. | 2 flacons/500 µL par flacon |
| 4  | <b>Conjugué enzymatique de l'œstriol</b><br>Concentré. À diluer avec le diluant du test d'œstriol avant utilisation. (Voir l'étape 6 de la section <i>Procédure</i> .)<br>Contient : conjugué œstriol-peroxydase de raifort, conservateur.                                                    | 1 flacon/50 µL              |
| 5  | <b>Diluant du test d'œstriol</b><br>Contient : tampon phosphate, conservateur.                                                                                                                                                                                                                | 1 flacon/60 mL              |
| 6  | <b>Tampon de lavage concentré (10×)</b><br>À diluer avant utilisation en respectant les instructions de la section <i>Préparation des réactifs</i> .<br>Contient : tampon phosphate, détergent, conservateur.                                                                                 | 1 flacon/100 mL             |
| 7  | <b>Solution de substrat TMB</b><br>Non toxique, prête à l'emploi.                                                                                                                                                                                                                             | 1 flacon/25 mL              |
| 8  | <b>Solution d'arrêt</b>                                                                                                                                                                                                                                                                       | 1 flacon/12,5 mL            |
| 9  | <b>Puits de liaison non spécifique (NSB)</b><br>Ne contiennent pas d'anticorps anti-œstriol. Si nécessaire, ces puits peuvent être détachés et ajoutés en tant que puits à blanc (facultatif).                                                                                                | 1 barrette                  |
| 10 | <b>Films adhésifs pour plaque</b>                                                                                                                                                                                                                                                             | 2                           |



## Matériel nécessaire non fourni

- Pipette de précision pouvant délivrer entre 7  $\mu\text{L}$  et 500  $\mu\text{L}$
- Pipette de précision multicanaux pouvant délivrer 50  $\mu\text{L}$ , 100  $\mu\text{L}$  et 200  $\mu\text{L}$
- Vortex
- Rotateur pour plaques avec orbite de 0,08 à 0,17 po d'une capacité de 500 tr/min et pouvant être réfrigérée à 2-8 °C.
- Lecteur de plaques avec filtres de référence de 450 nm et de 490 à 492 nm
- Logiciel informatique pour la réduction des données
- Eau déminéralisée
- Réservoirs à réactif
- 1 tube en polypropylène jetable d'une capacité minimale de 15 mL
- Petits tubes en polypropylène jetables pour la dilution de l'étalon, des contrôles et des échantillons
- Embouts de pipette
- Pipette sérologique pouvant délivrer jusqu'à 14 mL
- Réfrigérateur
- Centrifugeuse d'une puissance de 1 500 g

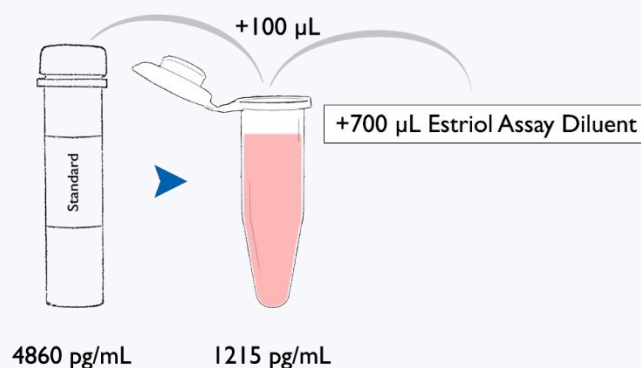




## Préparation des réactifs

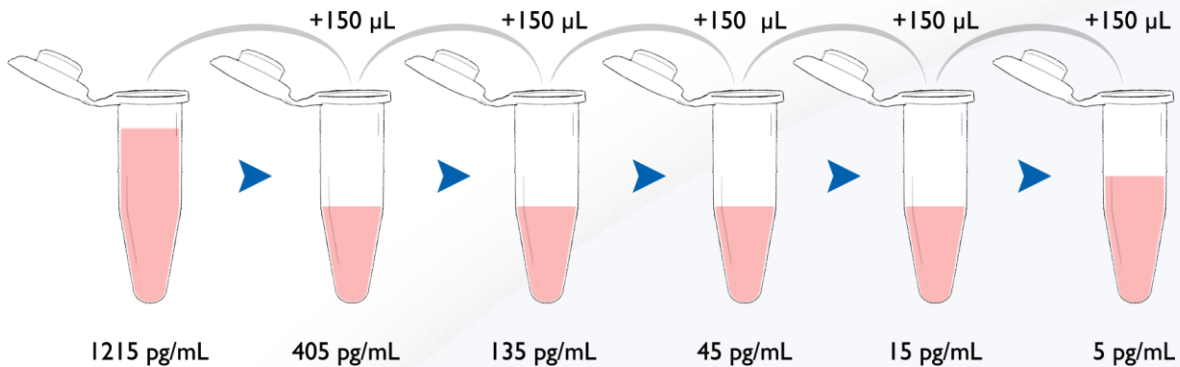
- Amener tous les réactifs à température ambiante et les agiter avant utilisation. Il est recommandé d'attendre au moins 1 heure et demie pour que les 14 mL de diluant du test d'œstriol utilisé à l'étape 6 (dilution du conjugué) reviennent à température ambiante.
- Amener la plaque de microtitration à température ambiante avant utilisation. **Veiller à conserver le sachet contenant les barrettes fermé jusqu'à ce que le contenu soit revenu à température ambiante, car l'humidité peut affecter les puits enduits.**
- Préparer un tampon de lavage 1× en diluant le tampon de lavage concentré (10×) 10 fois avec de l'eau déminéralisée à température ambiante (100 mL de tampon de lavage concentré [10×] pour 900 mL d'eau déminéralisée). **Diluer uniquement la quantité de réactif nécessaire pour la journée et jeter toute quantité inutilisée.** (En cas de précipité dans le tampon de lavage concentré, celui-ci peut être réchauffé à 40 °C pendant 15 minutes. Laisser revenir à température ambiante avant utilisation pour l'analyse.)
- Préparer les dilutions en série de l'étalon d'œstriol comme suit :
  - Numéroter 6 tubes de microcentrifugation en polypropylène (ou autres petits tubes) de 1 à 6.
  - Pipeter 700 µL de diluant du test d'œstriol dans le tube 1.
  - Diluer 4 860 pg/mL d'étalon d'œstriol à 1:8 en pipetant 100 µL d'étalon dans le tube 1. Indiquer 1 215 pg/mL sur l'étiquette de ce tube.

**Remarque : La concentration réelle d'œstriol dans l'étalon est de 607,5 pg/mL. Étant donné que les échantillons sont analysés après une dilution 2×, la concentration de la courbe d'étalonnage doit être ajustée afin de ne plus avoir à multiplier tous les résultats des échantillons par 2.**



- Pipeter 300 µL de diluant du test d'œstriol dans les tubes 2 à 6.

- Diluer en série l'étalon 3× en ajoutant 150 µL de l'étalon à 1 215 pg/mL (tube 1) dans le tube 2. Bien mélanger.
- Après avoir changé les embouts des pipettes, transférer 150 µL du tube 2 au tube 3. Bien mélanger.
- Procéder de la même façon pour les tubes 4, 5 et 6.
- Les concentrations finales des étalons dans les tubes 1 à 6 sont respectivement de 1 215 pg/mL, 405 pg/mL, 135 pg/mL, 45 pg/mL, 15 pg/mL et 5 pg/mL. Ces concentrations correspondent respectivement à 4 213,34 pmol/L, 1 404,45 pmol/L, 468,15 pmol/L, 156,05 pmol/L, 52,02 pmol/L et 17,34 pmol/L.



- Préparer les prédilutions des contrôles à concentration élevée et à concentration faible comme suit :
  - Indiquer 500 pg/mL sur l'étiquette d'un tube de microcentrifugation en polypropylène et 15 pg/mL sur l'étiquette d'un autre tube.
  - Prédiluer le contrôle à concentration élevée (3 000 pg/mL) à 1:6 en ajoutant 100 µL de contrôle à concentration élevée à 500 µL de diluant du test d'œstriol dans le tube portant la mention 500 pg/mL. Bien mélanger.
  - Prédiluer le contrôle à concentration faible (50 pg/mL) à 1:3,333 en ajoutant 150 µL de contrôle à concentration faible à 350 µL de diluant du test d'œstriol dans le tube portant la mention 15 pg/mL. Bien mélanger.

## Procédure du test d'œstriol salivaire ultrasensible

**Étape 1 :** Lire la section *Préparation des réactifs* et préparer les réactifs conformément à ces instructions avant le début du test. Déterminer la disposition de la plaque. Un exemple de disposition est présenté ci-dessous. (Les étalons, les contrôles et les échantillons de salive doivent être analysés en doublet.)

|   | 1         | 2         | 3      | 4      | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|---|-----------|-----------|--------|--------|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | Éta 1 215 | Éta 1 215 | Ctrl-H | Ctrl-H |   |   |   |   |   |    |    |    |
| B | Éta 405   | Éta 405   | Ctrl-L | Ctrl-L |   |   |   |   |   |    |    |    |
| C | Éta 135   | Éta 135   | Éch. 1 | Éch. 1 |   |   |   |   |   |    |    |    |
| D | Éta 45    | Éta 45    | Éch. 2 | Éch. 2 |   |   |   |   |   |    |    |    |
| E | Éta 15    | Éta 15    | Éch. 3 | Éch. 3 |   |   |   |   |   |    |    |    |
| F | Éta 5     | Éta 5     | Éch. 4 | Éch. 4 |   |   |   |   |   |    |    |    |
| G | Zéro      | Zéro      | Éch. 5 | Éch. 5 |   |   |   |   |   |    |    |    |
| H | NSB*      | NSB*      | Éch. 6 | Éch. 6 |   |   |   |   |   |    |    |    |

\* NSB : puits de liaison non spécifique. Ces puits peuvent servir de puits à blanc ; leur utilisation est facultative.

**Étape 2 :** Garder le nombre de barrettes souhaité dans le support de barrettes et remettre les autres barrettes dans le sachet. Si vous choisissez de placer les puits de liaison non spécifique en H-1 et H-2 : retirer les barrettes 1 et 2 du support de barrettes et détacher les puits du bas. Remettre les barrettes dans le support en laissant H-1 et H-2 vides. Détacher 2 puits NSB de la barrette de puits NSB contenue dans le sachet. Les placer en H-1 et H-2. Les puits NSB peuvent également être placés ailleurs sur la plaque. Refermer hermétiquement le sachet contenant les puits inutilisés et le dessiccant. Conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C.

**Mises en garde :** 1. *Les puits NSB excédentaires ne doivent pas être utilisés pour la détermination des étalons, des contrôles et des inconnues.*  
2. *Ne pas utiliser les puits d'une plaque sur une autre plaque.*

**Étape 3 :** Pipeter 14 mL de diluant du test d'œstriol dans le tube jetable. (Réduire le volume au prorata si tous les puits de la plaque ne sont pas utilisés.) Réserver jusqu'à l'étape 6.

### Étape 4 : Dilutions des contrôles et des échantillons

- Étiqueter un tube de microcentrifugation en polypropylène en indiquant l'identité de chaque contrôle et de chaque échantillon de salive.



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

- Diluer à nouveau 2× les tubes de contrôle à concentration élevée (500 pg/mL) et à concentration faible (15 pg/mL) préparés à l'étape *Préparation des réactifs* comme suit : 150 µL de contrôle dans 150 µL de diluant du test d'œstriol. Bien mélanger.
- Diluer les échantillons de salive 2× comme suit : 150 µL d'échantillon de salive dans 150 µL de diluant du test d'œstriol. Bien mélanger.

#### Étape 5 :

- Pipeter 100 µL d'étalons, de contrôles dilués et d'échantillons salivaires dilués dans les puits appropriés.
- Pipeter 100 µL de diluant du test d'œstriol dans 2 puits qui serviront d'étalon zéro.
- Pipeter 100 µL de diluant du test d'œstriol dans chaque puits NSB.

**Étape 6 :** Diluer le conjugué enzymatique à une concentration de 1:2 000 en ajoutant 7 µL de conjugué dans le tube de 14 mL contenant le diluant du test d'œstriol. (Réduire le volume au prorata si tous les puits de la plaque ne sont pas utilisés.) Le tube contenant le conjugué peut être centrifugé quelques minutes pour que le liquide tombe au fond du tube. Agiter immédiatement la solution de conjugué diluée et ajouter 100 µL dans chaque puits à l'aide d'une pipette multicanaux.

**Étape 7 :** Recouvrir la plaque avec le film adhésif fourni. Agiter la plaque dans un rotateur pour plaques réglé à 500 tr/min en continu pendant 20 à 24 heures à une température comprise entre 2 et 8 °C.

**Étape 8 :** Laver la plaque 4 fois avec le tampon de lavage 1×. L'utilisation d'un laveur de plaques est recommandée. Le lavage peut également se faire en pulvérisant délicatement du tampon de lavage dans chaque puits à l'aide d'un flacon pulvérisateur, ou en transférant 300 µL de tampon de lavage dans chaque puits puis en jetant le liquide dans l'évier. Après chaque lavage, la plaque doit être soigneusement époncée avec des serviettes en papier puis placée en position verticale. Si un laveur de plaques est utilisé, il est tout de même recommandé d'éponger la plaque après le dernier lavage.

**Étape 9 :** À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 200 µL de solution de substrat TMB dans chaque puits.

**Étape 10 :** Laisser incuber la plaque dans le noir (couvrir) à température ambiante pendant 45 minutes dans un rotateur pour plaques réglé à une vitesse de 500 tr/min (la plaque doit être agitée en continu).

**Étape 11 :** À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 50 µL de solution d'arrêt.

#### Étape 12 :

- Agiter la plaque pendant 3 minutes dans un rotateur pour plaques réglé à 500 tr/min. Si la coloration verte persiste, continuer d'agiter la plaque jusqu'à voir apparaître une coloration jaune. S'assurer que tous les puits ont pris une coloration jaune.

**Mise en garde : une vitesse supérieure à 600 tr/min peut entraîner un débordement.**



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

- Essuyer le fond de la plaque à l'aide d'un linge non pelucheux humidifié avec de l'eau, puis avec un linge sec.
- Lire la plaque à 450 nm dans un lecteur de plaques. Lire la plaque dans les 10 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt. (Pour des résultats optimaux, une correction à l'aide d'un second filtre de 490 à 492 nm est recommandée).

## Contrôle qualité

Les contrôles d'œstriol à concentration élevée et faible de Salimetrics doivent être utilisés lors de chaque test. Les plages de contrôle établies par Salimetrics sont données à titre indicatif. Chaque laboratoire doit établir sa propre gamme. Ces plages peuvent varier d'un laboratoire à l'autre en raison des différences techniques et d'instruments.

## Calculs

1. Déterminer la densité optique (DO) moyenne pour tous les puits dédoublés.
2. Soustraire la valeur moyenne de DO obtenue avec les puits NSB (si utilisés) des valeurs obtenues avec le zéro, les étalons, les contrôles et les échantillons de salive.
3. Calculer le pourcentage de liaison (B/Bo) pour chaque étalon, contrôle et échantillon de salive en divisant la DO de chaque puits (B) par la DO moyenne du zéro (Bo). (Le zéro ne correspond pas à un point sur la courbe d'étalonnage.)
4. Déterminer les concentrations des contrôles et des échantillons de salive par interpolation en utilisant le logiciel de réduction des données. Il est recommandé d'utiliser un ajustement de courbe de régression non linéaire à 4 paramètres.
5. La courbe d'étalonnage ayant été ajustée afin de compenser automatiquement la dilution 2× de l'échantillon de salive, aucune multiplication supplémentaire des résultats n'est nécessaire.
6. Les échantillons (dilués 2×) donnant des valeurs d'œstriol supérieures à 1 215 pg/mL doivent être dilués à nouveau avec le diluant du test d'œstriol et réanalysés afin d'obtenir des résultats corrects. Si un échantillon dilué 2× est à nouveau dilué, les résultats du test doivent être multipliés par le facteur de la nouvelle dilution uniquement.

**Exemple :**

1. Résultat de l'analyse de l'échantillon (dilué 2×) > 1 215 pg/mL
2. Diluer à nouveau l'échantillon dilué 2× selon un facteur de 4  
Résultat du dosage = 1 000 pg/mL
3. Concentration finale de l'échantillon de salive = 1 000 pg/mL  
× 4 = 4 000 pg/mL

***Une nouvelle courbe d'étalonnage doit être établie pour chaque plaque complète ou partielle.***



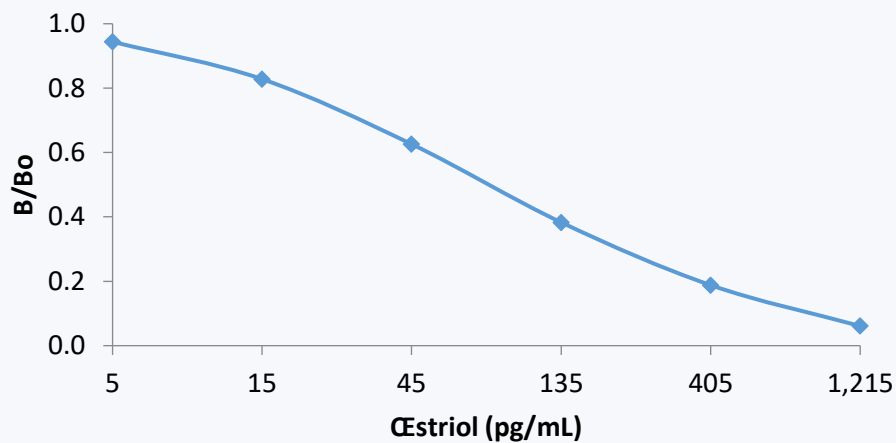
101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

## Résultats attendus

Les résultats ci-dessous sont présentés à titre indicatif uniquement et ne doivent pas être utilisés pour calculer les résultats d'un autre test.

| Puits | Étalon | DO moyenne | B     | B/Bo  | Œstriol ultrasensible |
|-------|--------|------------|-------|-------|-----------------------|
| A1,A2 | S1     | 0,119      | 0,096 | 0,061 | 1 215                 |
| B1,B2 | S2     | 0,318      | 0,295 | 0,188 | 405                   |
| C1,C2 | S3     | 0,624      | 0,601 | 0,383 | 135                   |
| D1,D2 | S4     | 1,004      | 0,981 | 0,626 | 45                    |
| E1,E2 | S5     | 1,321      | 1,298 | 0,828 | 15                    |
| F1,F2 | S6     | 1,503      | 1,480 | 0,944 | 5                     |
| G1,G2 | Bo     | 1,591      | 1,568 | S.O.  | S.O.                  |
| H1,H2 | NSB    | 0,023      | S.O.  | S.O.  | S.O.                  |

## Exemple : ajustement de courbe de l'œstriol ultrasensible à 4 paramètres



## Limites

- Les échantillons (dilués 2×) donnant des valeurs d'œstriol supérieures à 1 215 pg/mL doivent être dilués à nouveau avec le diluant du test d'œstriol et réanalysés afin d'obtenir des résultats corrects. Si un échantillon dilué 2× est à nouveau dilué, les résultats du test doivent être multipliés par le facteur de la nouvelle dilution uniquement. Voir également la section *Calculs*.
- Voir les recommandations de la section *Recueil de l'échantillon* pour garantir que l'échantillon de salive est recueilli correctement et pour éviter les substances interférentes.
- Les échantillons contenant de l'azoture de sodium ne conviennent pas pour ce test.
- En cas de résultat quantitatif indiquant des concentrations d'œstriol anormales, une analyse et une évaluation supplémentaires s'imposent.

## Exemples de gammes de concentrations de l'œstriol salivaire\*

| Groupe                        | Moment de la journée | N  | Gamme ± 2 É-T (pg/mL) | Gamme absolue (pg/mL) |
|-------------------------------|----------------------|----|-----------------------|-----------------------|
| Femmes adultes préménopausées | Matin                | 17 | 0-16,4                | 0-28,12               |
| Femmes adultes préménopausées | Après-midi           | 16 | 0-4,8                 | 0-6,88                |

\* À titre indicatif uniquement. Chaque laboratoire doit établir sa propre gamme.

## Caractéristiques de performance du kit d'EIA de l'œstriol salivaire ultrasensible

### Précision

La précision intra-série a été déterminée en calculant la moyenne de 12 réplicats.

| Échantillon salivaire | N  | Moyenne (pg/mL) | Écart-type (pg/mL) | Coefficient de variation (%) |
|-----------------------|----|-----------------|--------------------|------------------------------|
| Concentration élevée  | 12 | 534,5           | 10,84              | 2,0                          |
| Concentration faible  | 12 | 15,04           | 1,25               | 8,3                          |

La précision inter-série a été déterminée en calculant la moyenne des moyennes des duplicats pour 12 dosages distincts.

| Échantillon salivaire | N  | Moyenne (pg/mL) | Écart-type (pg/mL) | Coefficient de variation (%) |
|-----------------------|----|-----------------|--------------------|------------------------------|
| Concentration élevée  | 12 | 488,30          | 20,32              | 4,2                          |
| Concentration faible  | 12 | 18,19           | 2,63               | 14,5                         |

### Récupération

Trois échantillons de salive contenant différentes concentrations d'œstriol endogène ont été enrichis avec des quantités connues d'œstriol et analysés.

| Échantillon salivaire | Endogène (pg/mL) | Ajoutée (pg/mL) | Attendue (pg/mL) | Observée (pg/mL) | Récupération (%) |
|-----------------------|------------------|-----------------|------------------|------------------|------------------|
| 1                     | 361,7            | 13,5            | 375,2            | 369,53           | 98,5             |
| 2                     | 6,42             | 972             | 978,42           | 880,78           | 90,0             |
| 3                     | 0                | 121,5           | 121,5            | 125,33           | 103,2            |



## **Sensibilité**

La limite inférieure de détection a été déterminée en interpolant la densité optique moyenne moins 2 écarts-types de 10 ensembles de duplicats à la concentration de 0 pg/mL. La concentration minimale d'œstriol pouvant être distinguée de 0 est de 1 pg/mL.

## **Corrélation avec l'œstriol sérique**

La corrélation entre l'œstriol sérique et l'œstriol salivaire chez les femmes enceintes et non enceintes a été déterminée en analysant 35 échantillons appariés. La corrélation salive/sérum était hautement significative,  $r(33) = 0,87, p < 0,001$ .

## **Récupération après dilution de l'échantillon**

Deux échantillons ont été dilués en série avec le diluant du test d'œstriol et ont été analysés.

| Échantillon salivaire | Facteur de dilution | Attendue (pg/mL) | Observée (pg/mL) | Récupération (%) |
|-----------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| 1                     |                     |                  | 156,71           |                  |
|                       | 1:2                 | 78,36            | 68,60            | 87,5             |
|                       | 1:4                 | 39,18            | 34,76            | 88,7             |
|                       | 1:8                 | 19,59            | 18,44            | 94,1             |
|                       | 1:16                | 9,79             | 9,69             | 99,0             |
| 2                     |                     |                  | 789,84           |                  |
|                       | 1:2                 | 394,92           | 409,60           | 103,7            |
|                       | 1:4                 | 197,46           | 214,78           | 108,8            |
|                       | 1:8                 | 98,73            | 113,3            | 114,8            |
|                       | 1:16                | 49,37            | 53,53            | 108,4            |

## ***Spécificité de l'anticorps***

| <b>Composé</b>                   | <b>Concentration après enrichissement (ng/mL)</b> | <b>% de réactivité croisée avec le test d'EIA de l'œstriol salivaire ultrasensible</b> |
|----------------------------------|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Œstradiol                        | 50                                                | 1,4                                                                                    |
| Œstrone                          | 10                                                | ND                                                                                     |
| Progestérone                     | 100                                               | ND                                                                                     |
| 17 $\alpha$ -hydroxyprogestérone | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Testostérone                     | 100                                               | 0,0145                                                                                 |
| Cortisol                         | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| DHEA                             | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Aldostérone                      | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Cortisone                        | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| 11-désoxycortisol                | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| 21-désoxycortisol                | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Dexaméthasone                    | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Triamincinolone                  | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Corticostérone                   | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Prednisolone                     | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Prednisone                       | 1 000                                             | ND                                                                                     |
| Transferrine                     | 1 000                                             | ND                                                                                     |

ND = non détecté (< 0,004)

## **Références**

1. Vining, R.F. & McGinley, R.A. (1987). The measurement of hormones in saliva: Possibilities and pitfalls. *J Steroid Biochem*, 27(1-3), 81-94.
2. Rainey, W.E. & Nakamura, Y. (2008). Regulation of the adrenal androgen biosynthesis. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 108(3-5), 281-86.
3. Watson, C.S., Jeng, Y.-J., & Kochukov, M.Y. (2008). Nongenomic actions of estradiol compared with estrone and estriol in pituitary tumor cell signaling and proliferation. *FASEB J*, 22(9), 3328-36.
4. Moutsatsou, V. & Oakey, R.E. (1988). Oestriol binding to plasma proteins. *J Steroid Biochem*, 29(3), 319-23.



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

5. Chard, T. (1990). *An introduction to radioimmunoassay and related techniques* (4th ed.). Amsterdam: Elsevier.
6. Kivlighan, K.T., Granger, D.A., Schwartz, E.B., Nelson, V., & Curran, M. (2004). Quantifying blood leakage into the oral mucosa and its effects on the measurement of cortisol, dehydroepiandrosterone, and testosterone in saliva. *Horm Behav*, 46(1), 39-46.
7. Schwartz, E. & Granger, D.A. (2004). Transferrin enzyme immuno- assay for quantitative monitoring of blood contamination in saliva. *Clin Chem*, 50(3), 654-56.

## Garantie limitée du vendeur

« Le Vendeur garantit que tous les produits vendus aux termes des présentes sont exempts de défaut de matériau et de fabrication. En cas de notification d'un défaut par l'Acheteur, envoyée dans les trente (30) jours suivant la date de la découverte dudit défaut et dans les trois mois suivant la date d'expédition, le Vendeur, à sa discrétion, réparera ou remplacera le produit s'il le juge défectueux. Toute demande doit être soumise par écrit. Cette garantie ne couvre pas les dommages résultant d'un accident, d'un mésusage, d'une négligence ou d'une utilisation anormale. Dans tous les cas, la responsabilité se limitera au prix d'achat du kit.

**Il est expressément convenu que cette garantie limitée remplace toute garantie d'adéquation avec un usage particulier et de qualité marchande. Le Vendeur ne peut être tenu responsable des dommages accessoires ou indirects découlant de l'installation, de l'utilisation et de manipulation du produit du Vendeur ou découlant du non-respect de toute garantie expresse ou tacite. »**

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Salimetrics, LLC<br/>           (East Coast) 101 Innovation Blvd., Suite 302<br/>           State College, PA 16803, États-Unis<br/>           Tél. : 814.234.2617 Fax : 814.238.1608<br/>           800-790-2258 (États-Unis et Canada uniquement)<br/> <a href="http://www.salimetrics.com">www.salimetrics.com</a> <a href="mailto:support@salimetrics.com">support@salimetrics.com</a></p> | <p>Salimetrics, LLC<br/>           (West Coast) 5962 La Place Court, Suite 275<br/>           Carlsbad, CA 92008, États-Unis<br/>           Tél. : 760.444.4126 Fax : 814.238.1608<br/>           800-790-2258 (États-Unis et Canada uniquement)<br/> <a href="http://www.salimetrics.com">www.salimetrics.com</a> <a href="mailto:support@salimetrics.com">support@salimetrics.com</a></p>                                                        |
| <p>Représentant autorisé dans l'Union européenne<br/>           Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH<br/>           Leipziger Straße 4<br/>           85386 Eching, Allemagne<br/>           Tél. : +49 (0)89 3799666-6<br/> <a href="http://www.biozol.de">www.biozol.de</a> <a href="mailto:info@biozol.de">info@biozol.de</a></p> <p style="text-align: center;"><b>CE</b></p>                     | <p>Personne responsable au Royaume-Uni<br/>           Stratech Scientific Ltd<br/>           Cambridge House, St Thomas Place,<br/>           Cambridgeshire Business Park,<br/>           Ely, CB7 4EX, Royaume-Uni<br/>           Tél. : +44 (0) 1638782600<br/> <a href="http://www.stratech.co.uk">www.stratech.co.uk</a> <a href="mailto:info@stratech.co.uk">info@stratech.co.uk</a></p> <p style="text-align: center;"><b>UK<br/>CA</b></p> |

**Date de mise à jour : 9 septembre 2021**



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803  
 1.800.790.2258 • [support@salimetrics.com](mailto:support@salimetrics.com) • [salimetrics.com](http://salimetrics.com)