



**KIT DE DOSAGE IMMUNO-ENZYMATIQUE (EIA)
DE LA
PROGESTÉRONE SALIVAIRE**



Pour diagnostic *in vitro*

Référence catalogue 1-2502, kit de 96 puits (kit unique) ;
1-2502-5, 480 puits (boîte de 5)



101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • 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
Indicateur de pH	6
Recueil de l'échantillon	6
Manipulation et préparation des échantillons	6
Matériel fourni avec le kit unique	8
Matériel nécessaire non fourni	9
Préparation des réactifs	10
Procédure	11
Contrôle qualité	12
Calculs	13
Résultats attendus	13
Limites	14
Exemples de gammes de concentrations de la progestérone salivaire	15
Caractéristiques de performance du kit d'EIA de la progestérone salivaire	16
Références	20
Garantie limitée du vendeur	21



Utilisation prévue

Le kit de dosage immuno-enzymatique de la progestérone de Salimetrics® est un test d'immunodosage compétitif spécifiquement conçu et validé pour la mesure quantitative *in vitro* de la progestérone salivaire. Ce kit peut être utilisé pour le diagnostic et le traitement des troubles ovariens. La progestérone salivaire reflète de façon précise la quantité de progestérone 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

La progestérone (pregn-4-ene-3,20-dione) est une hormone stéroïdienne qui joue un rôle essentiel dans l'ovulation, la fertilité, la grossesse et la ménopause. La progestérone est synthétisée dans le placenta, les glandes surrénales et les gonades (2-4). Chez la femme en bonne santé et non enceinte, au milieu de la phase lutéale du cycle menstruel, la progestérone suit principalement un rythme circadien avec des composantes de rythme ultradien supplémentaires. Le pic de production se produit le soir, aux alentours de 18 heures (5). Chez la femme enceinte, la progestérone suit un rythme similaire au cours des deuxième et troisième trimestres de grossesse, avec un nadir le matin et un pic tard le soir (6). Chez l'homme, la progestérone pourrait jouer un rôle dans la physiologie des testicules (7).

En plus d'être une hormone sexuelle, la progestérone est un précurseur d'un grand nombre d'autres hormones stéroïdiennes. Elle est également synthétisée dans le cerveau et le système nerveux central, où elle agit comme un neurostéroïde capable d'influencer la survie et la croissance des cellules (8,9), intervient dans le développement cérébral et influence le comportement (8-11).

Le dosage de la progestérone salivaire est souvent utilisé pour contrôler les cycles menstruels, la fonction ovarienne et la fertilité (12-15).

Dans le sang, la progestérone libre ou biologiquement active ne représente que 1 à 10 % de la quantité totale de testostérone. Le reste est lié à des protéines sériques. La progestérone libre pénètre dans la salive par des mécanismes intracellulaires, et la majorité de la progestérone salivaire n'est pas liée à des protéines. Le débit salivaire et les enzymes salivaires n'ont aucune incidence sur les concentrations de progestérone salivaire (1). Les corrélations entre concentrations plasmatiques et concentrations salivaires mesurées chez les mêmes sujets sont généralement élevées (16).



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. La progestérone présente dans les étalons et dans les échantillons entre en compétition avec la progestérone conjuguée 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 la progestérone 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 la progestérone détectée est inversement proportionnelle à la quantité de progestérone présente dans l'échantillon (17).

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 une 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 (consulter le site 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 • 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.
- L'utilisation de crèmes à la progestérone ou de compléments de progestérone par le technicien de laboratoire réalisant l'analyse peut fausser les résultats.
- 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 • salimetrics.com

Indicateur de pH

Les valeurs de progestérone obtenues avec des échantillons ayant un $\text{pH} \leq 4$ ou ≥ 9 pourraient être inexactes. Un indicateur de pH dans le diluant du test indique à l'utilisateur les échantillons ayant un pH trop bas ou trop élevé. Lors de l'ajout du diluant du test, les échantillons acides prendront une coloration jaune et les échantillons alcalins une coloration mauve. Une coloration jaune foncé ou mauve foncé du puits indique que le pH de l'échantillon doit être mesuré à l'aide d'une bandelette indicatrice de pH. En cas de $\text{pH} \leq 4$ ou ≥ 9 , un nouvel échantillon doit être recueilli (18).

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 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 (19,20) 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 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans les 4 heures suivant le recueil. (Les échantillons peuvent être conservés à $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 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'azotate de sodium (conservateur) aux échantillons de salive car cela pourrait fausser l'immunodosage.



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

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 le transfert dans les puits. Pipeter la salive claire dans les puits appropriés. Recongeler les échantillons de salive dès que possible après le transfert. Recentrifuger les échantillons à chaque décongélation. Éviter les cycles de congélation/décongélation répétés.



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

Matériel fourni avec le kit unique

	Article	Quantité/taille
1	Plaque de microtitration Enduite d'anticorps de lapin anti-progestérone.	1/96 puits
2	Étalon de progestérone 2 430 pg/mL dans une matrice salivaire. À diluer en série avant utilisation en respectant les instructions de la section <i>Préparation des réactifs</i> . Contient : progestérone, tampon, conservateur.	1 flacon/1 mL
3	Contrôles de progestérone Concentration élevée (Ctrl-H), concentration faible (Ctrl-L), dans une matrice salivaire. Prêt à l'emploi. Contient : progestérone, tampon, conservateur.	2 flacons/500 µL par flacon
4	Conjugué enzymatique de la progestérone Concentré. À diluer avec le diluant du test avant utilisation. (Voir l'étape 5 de la section <i>Procédure</i> .) Contient : conjugué progestérone-peroxydase de raifort, conservateur.	1 flacon/50 µL
5	Diluant du test Contient : tampon phosphate, indicateur de pH, conservateur.	1 flacon/60 mL
6	Tampon de lavage concentré (10×) À diluer avant utilisation en respectant les instructions de la section <i>Préparation des réactifs</i> . Contient : tampon phosphate, détergent, conservateur.	1 flacon/100 mL
7	Solution de substrat TMB Non toxique, prête à l'emploi.	1 flacon/25 mL
8	Solution d'arrêt	1 flacon/12,5 mL
9	Puits de liaison non spécifique (NSB) Ne contiennent pas d'anticorps anti-progestérone. Si nécessaire, ces puits peuvent être détachés et ajoutés en tant que puits à blanc (facultatif).	1 barrette
10	Films adhésifs pour plaque	2



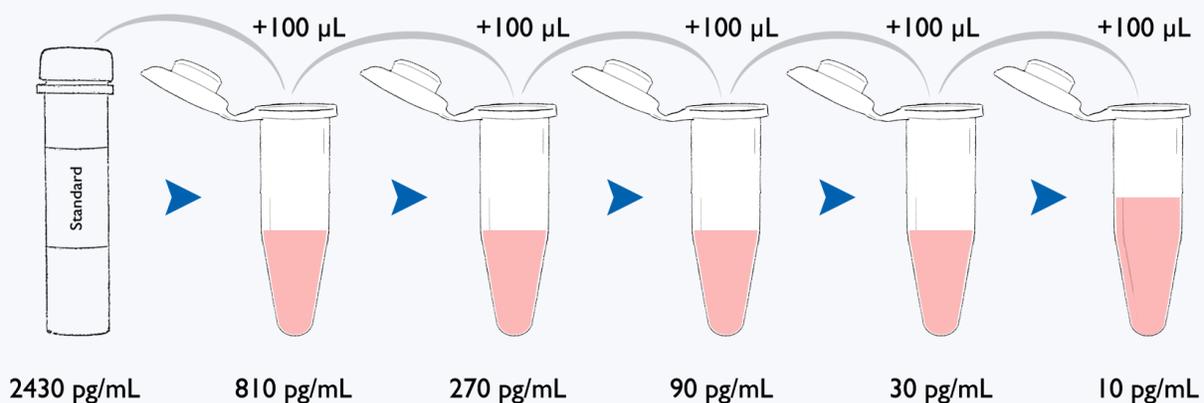
Matériel nécessaire non fourni

- Pipette de précision pouvant délivrer 22,5 µL, 50 µL, 100 µL et 200 µL
- Pipette de précision multicanaux pouvant délivrer 50 µL, 150 µL et 200 µL
- Vortex
- Rotateur pour plaques avec orbite de 0,08 à 0,17 po d'une capacité de 500 tr/min
- 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 18 mL
- 5 petits tubes en polypropylène jetables pour la dilution de l'étalon
- Embouts de pipette
- Pipette sérologique pouvant délivrer jusqu'à 20 mL
- 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 18 mL de diluant du test utilisé à l'étape 5 (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'H₂O 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 de progestérone comme suit :
 - Numéroté 5 tubes de microcentrifugation en polypropylène (ou autres petits tubes) de 2 à 6.
 - Pipeter 200 µL de diluant du test dans les tubes 2 à 6.
 - Diluer en série l'étalon 3× en ajoutant 100 µL de l'étalon à 2 430 pg/mL (tube 1) dans le tube 2. Bien mélanger.
 - Après avoir changé les embouts des pipettes, transférer 100 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 2 430 pg/mL, 810 pg/mL, 270 pg/mL, 90 pg/mL, 30 pg/mL et 10 pg/mL. Ces concentrations correspondent respectivement à 7,733 nmol/L, 2,576 nmol/L, 0,859 nmol/L, 0,286 nmol/L, 0,095 nmol/L et 0,032 nmol/L.



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

Procédure

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 2 430	Éta 2 430	Ctrl-H	Ctrl-H								
B	Éta 810	Éta 810	Ctrl-L	Ctrl-L								
C	Éta 270	Éta 270	Éch. 1	Éch. 1								
D	Éta 90	Éta 90	Éch. 2	Éch. 2								
E	Éta 30	Éta 30	Éch. 3	Éch. 3								
F	Éta 10	Éta 10	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 18 mL de diluant du test 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 5.

Étape 4 :

- Pipeter 50 µL d'étalons, de contrôles et d'échantillons salivaires dans les puits appropriés.
- Pipeter 50 µL de diluant du test dans 2 puits qui serviront d'étalon zéro.
- Pipeter 50 µL de diluant du test dans chaque puits NSB.



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

Étape 5 : Diluer le conjugué enzymatique à une concentration de 1:800 en ajoutant 22,5 µL de conjugué dans le tube de 18 mL contenant le diluant du test. (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 150 µL dans chaque puits à l'aide d'une pipette multicanaux.

Étape 6 : Recouvrir la plaque avec le film adhésif fourni. Agiter la plaque dans un rotateur pour plaques réglé à 500 tr/min *en continu* pendant 1 heure à température ambiante.

Étape 7 : 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 8 : À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 200 µL de solution de substrat TMB dans chaque puits.

Étape 9 : Agiter la plaque pendant 5 minutes dans un rotateur pour plaques réglé à 500 tr/min, et laisser incuber dans le noir (couvrir) à température ambiante pendant 25 minutes supplémentaires.

Étape 10 : À l'aide d'une pipette multicanaux, ajouter 50 µL de solution d'arrêt.

Étape 11 :

- 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.
- 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 optimums, une correction à l'aide d'un second filtre de 490 à 492 nm est recommandée).

Contrôle qualité

Les contrôles de progestérone 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 plage. Ces plages peuvent varier d'un laboratoire à l'autre en raison des différences techniques et d'instruments.



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

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 des étalons 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. Les échantillons donnant des valeurs de progestérone supérieures à 2 430 pg/mL doivent être dilués avec le diluant du test et réanalysés afin d'obtenir des résultats corrects. Si l'échantillon est dilué, multiplier les résultats du test par le facteur de dilution.

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

Résultats attendus

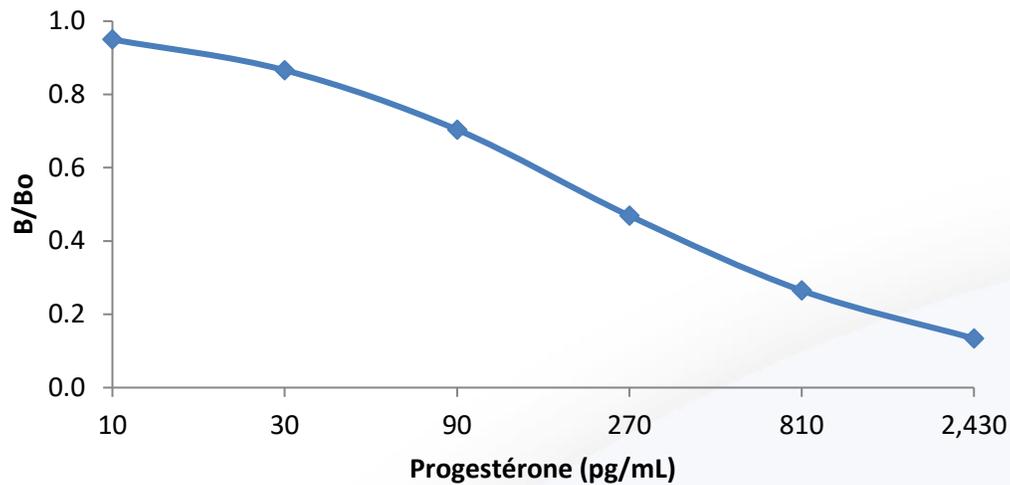
Les résultats ci-dessous sont présentés à titre indicatif uniquement et ne doivent pas être utilisés pour calculer les résultats d'un autre test.

Puits	Étalon	DO moyenne	B	B/Bo	Progestérone (pg/mL)
A1,A2	S1	0,155	0,152	0,134	2 430
B1,B2	S2	0,303	0,300	0,265	810
C1,C2	S3	0,534	0,531	0,469	270
D1,D2	S4	0,800	0,797	0,704	90
E1,E2	S5	0,983	0,980	0,866	30
F1,F2	S6	1,075	1,072	0,950	10
G1,G2	Bo	1,135	1,132	S.O.	
H1,H2	NSB	0,003	S.O.	S.O.	



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

Exemple : ajustement de courbe de la progestérone à 4 paramètres



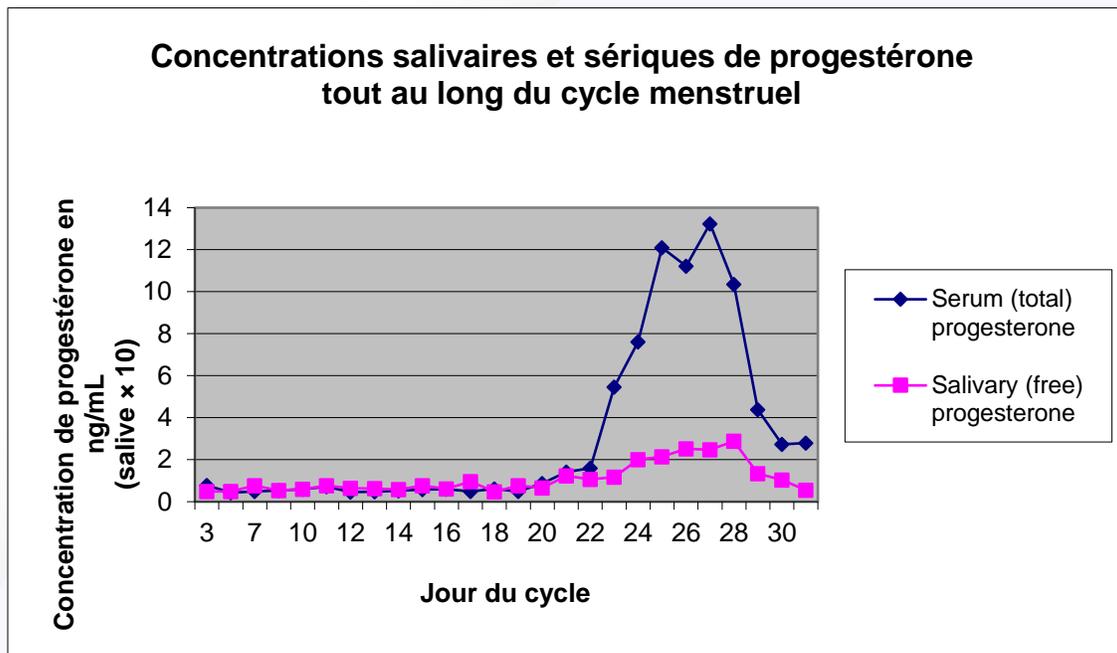
Limites

- Les échantillons donnant des valeurs de progestérone supérieures à 2 430 pg/mL doivent être dilués avec le diluant du test et réanalysés afin d'obtenir des résultats corrects. Pour obtenir la concentration finale de progestérone, multiplier la concentration de l'échantillon dilué par le facteur de dilution.
- Si un échantillon a pris une coloration jaune ou mauve après l'ajout de la solution de conjugué diluée et l'agitation de la plaque (étape 6), son pH doit être mesuré. En cas de $\text{pH} \leq 4,0$ ou ≥ 9 , un nouvel échantillon doit être recueilli.
- 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 de progestérone anormales, une analyse et une évaluation supplémentaires s'imposent.

Exemples de gammes de concentrations de progestérone salivaire*

Groupe	N	Moyenne (pg/mL)	Écart-type (pg/mL)
Phase folliculaire	127	80,35	34,8
Phase lutéale	202	131,00	54,5
Non ménopausées, jour 20	23	136,30	82,3
Ménopausées	11	58,90	29,7

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



Caractéristiques de performance du kit d'EIA de la progestérone salivaire

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	884,61	35,1	4,0
Concentration faible	12	39,23	3,3	8,4

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

Échantillon salivaire	N	Moyenne (pg/mL)	Écart-type (pg/mL)	Coefficient de variation (%)
Concentration élevée	12	884,15	48,7	5,5
Concentration faible	12	28,04	2,7	9,6

Récupération

Six échantillons de salive contenant différentes concentrations de progestérone endogène ont été enrichis avec des quantités connues de progestérone et analysés.

Échantillon salivaire	Endogène (pg/mL)	Ajoutée (pg/mL)	Attendue (pg/mL)	Observée (pg/mL)	Récupération (%)
1	91,81	1 000	1 091,81	1 188,34	108,8
2	31,14	1 000	1 031,14	1 042,59	101,1
3	102,52	243	345,52	344,81	99,8
4	18,86	243	261,86	251,83	96,2
5	23,54	27	50,54	49,72	98,4
6	2 063,56	27	2 090,56	1 943,90	93,0



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

Sensibilité

Sensibilité analytique

La limite inférieure de détection a été déterminée en interpolant la densité optique moyenne moins 2 écarts-types de 20 ensembles de réplicats à la concentration de 0 pg/mL. La concentration minimale de progestérone pouvant être distinguée de 0 est de 5 pg/mL.

Sensibilité fonctionnelle

La sensibilité fonctionnelle a été déterminée en analysant 60 échantillons à un niveau de concentration donnant un coefficient de variation d'environ 20 %. La sensibilité fonctionnelle de l'EIA de la progestérone salivaire est de 12,37 pg/mL.

Corrélation avec la progestérone sérique

La corrélation entre progestérone sérique et progestérone salivaire a été déterminée en analysant des échantillons appariés à l'aide du test d'EIA de la progestérone sérique de Diagnostic Systems Laboratories et du test d'EIA de progestérone salivaire de Salimetrics.

La corrélation entre concentration sérique et concentration salivaire était hautement significative, $r(35) = 0,80$ (femmes : $r[25] = 0,87$; hommes : $r[8] = 0,67$), $p < 0,001$.



Récupération après dilution de l'échantillon

Trois échantillons ont été dilués en série avec le diluant du test et ont été analysés.

Échantillon salivaire	Facteur de dilution	Attendue (pg/mL)	Observée (pg/mL)	Récupération (%)
Échantillon 1			272,05	
	1:2	136,03	140,63	103,4
	1:4	68,01	61,09	89,8
	1:8	34,01	28,52	83,9
	1:16	17,00	14,97	88,1
Échantillon 2			282,90	
	1:2	141,45	131,74	93,1
	1:4	70,73	65,08	92,0
	1:8	35,36	36,72	103,8
	1:16	17,68	16,37	92,6
Échantillon 3			1 188,34	
	1:2	594,17	581,16	97,8
	1:4	297,09	268,12	90,2
	1:8	148,54	134,85	90,8
	1:16	74,27	56,89	76,6

Spécificité de l'anticorps

Composé	Concentration après enrichissement (ng/mL)	% de réactivité croisée avec le test d'EIA de la progestérone salivaire
Prednisolone	1 000	0,0021
Prednisone	1 000	0,0038
Cortisone	1 000	0,0106
11-désoxycortisol	1 000	0,0195
21-désoxycortisol	1 000	0,0082
17 α -hydroxyprogestérone	1 000	0,0723
Dexaméthasone	1 000	0,0014
Triamincinolone	1 000	ND
Corticostérone	500	0,1924
Testostérone	1 000	ND
DHEA	1 000	ND
Cortisol	1 000	ND
Transferrine	1 000	ND
Aldostérone	1 000	ND
Œstradiol	1 000	ND
Œstrone	1 000	ND
Œstriol	1 000	ND

ND = non détecté (< 0,004)



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

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. Tuckey, R.C. (2005). Progesterone synthesis by the human placenta. *Placenta*, 26(4), 273-81.
3. Soules, M.R., Clifton, D.K., Steiner R.A., Cohen, N.L., & Bremner, W.J. (1988). The corpus luteum: Determinants of progesterone secretion in the normal menstrual cycle. *Obstet Gynecol*, 71(5), 659-66.
4. Eppig, J.J. (2001). Oocyte control of ovarian follicular development and function in mammals. *Reproduction*, 122(6), 829-38.
5. Veldhuis, J.D., Christiansen, E.C., Evans, W.S., Kolp, L.A., Rogol, A.D., & Johnson, M.L. (1988). Physiological profiles of episodic progesterone release during the midluteal phase of the human menstrual cycle: Analysis of circadian and ultradian rhythms, discrete pulse properties, and correlations with simultaneous luteinizing hormone release. *J Clin Endocrinol Metab*, 66(2), 414-21.
6. Junkermann, H., Mangold, H., Vecsei, P., & Runnebaum, B. (1982). Circadian rhythm of serum progesterone levels in human pregnancy and its relation to the rhythm of cortisol. *Acta Endocrinol (Copenh.)*, 101(1), 98-104.
7. Shah, C., Modi, D., Sachdeva, G., Gadkar, S., & Puri, C. (2005). Coexistence of intracellular and membrane-bound progesterone receptors in human testis. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(1), 474-83.
8. Djebaili, M., Guo, Q., Pettus, E.H., Hoffman, S.W., & Stein, D.G. (2005). The neurosteroids progesterone and allopregnanolone reduce cell death, gliosis, and functional deficits after traumatic brain injury in rats. *J Neurotrauma*, 22(1), 106-18.
9. Stein, D.G. (2008). Progesterone exerts neuroprotective effects after brain injury. *Brain Res Rev*, 57(2), 386-97.
10. Wagner, C.K. (2006). The many faces of progesterone: A role in adult and developing male brain. *Front Neuroendocrinol*, 27(3), 340-59.
11. Brown, S.L., Fredrickson, B.L., Wirth, M.M., Poulin, M.J., Meier, E.A., Heaphy, E.D., Cohen, M.D., & Schultheiss, O.C. (2009). Social closeness increases salivary progesterone in humans. *Horm Behav*, 56(1), 108-11.
12. Ellison, P.T. (1994). Salivary steroids and natural variation in human ovarian function. *Ann N Y Acad Sci*, 709, 287-98.
13. Ishikawa, M., Sengoku, K., Tamate, K., Takaoka, Y., Kane, M., & Fottrell, P.F. (2002). The clinical usefulness of salivary progesterone measurement for the evaluation of the corpus luteum function. *Gynecol Obstet Invest*, 53(1), 32-37.
14. Lipson, S.F. & Ellison, P.T. (1996). Comparison of salivary steroid profiles in naturally occurring conception and non-conception cycles. *Hum Reprod*, 11(10), 2090-96.
15. Lu, Y., Bentley, G.R., Gann, P.H., Hodges, K.R., & Chatterton, R.T. (1999). Salivary estradiol and progesterone levels in conception and nonconception cycles in women: Evaluation of a new assay for salivary estradiol. *Fert Steril*, 71(5), 863-68.
16. Ellison, P.T. (1993). Measurements of salivary progesterone. *Ann N Y Acad Sci*, 694, 161-76.
17. Chard, T. (1990). *An introduction to radioimmunoassay and related techniques* (4th ed.). Amsterdam: Elsevier.
18. Schwartz, E.B., Granger, D.A., Susman, E.J., Gunnar, M.R., & Laird, B. (1998). Assessing salivary cortisol in studies of child development. *Child Devel*, 69(6), 1503-13.



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

19. 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.
20. Schwartz, E. & Granger, D.A. (2004). Transferrin enzyme immunoassay 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 (East Coast) 101 Innovation Blvd., Suite 302 State College, PA 16803, États-Unis Tél. : 814.234.2617 Fax : 814.238.1608 800-790-2258 (États-Unis et Canada uniquement) www.salimetrics.com support@salimetrics.com</p>	<p>Salimetrics, LLC (West Coast) 5962 La Place Court, Suite 275 Carlsbad, CA 92008, États-Unis Tél. : 760.444.4126 Fax : 814.238.1608 800-790-2258 (États-Unis et Canada uniquement) www.salimetrics.com support@salimetrics.com</p>
<p>Représentant autorisé dans l'Union européenne Biozol Diagnostica Vertrieb GmbH Leipziger Straße 4 85386 Eching, Allemagne Tél. : +49 (0)89 3799666-6 www.biozol.de info@biozol.de</p> <p style="text-align: center;">CE</p>	<p>Personne responsable au Royaume-Uni Stratech Scientific Ltd Cambridge House, St Thomas Place, Cambridgeshire Business Park, Ely, CB7 4EX, Royaume-Uni Tél. : +44 (0) 1638782600 www.stratech.co.uk info@stratech.co.uk</p> <p style="text-align: center;">UK CA</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 • salimetrics.com