



KIT DE DOSAGE IMMUNO-ENZYMATIQUE (EIA)
de la
TESTOSTÉRONE SALIVAIRE
à gamme étendue



Pour diagnostic *in vitro*

Référence catalogue 1-2312, kit de 96 puits (kit unique) ;
1-2312-5, 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	5
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	13
Calculs	13
Résultats attendus	13
Limites	14
Exemples de gammes de concentrations de la testostérone salivaire	15
Caractéristiques de performance du kit d'EIA de la testostérone salivaire	15
Références	21
Garantie limitée du vendeur	23



Utilisation prévue

Le kit de dosage immuno-enzymatique de la testostérone de Salimetrics® est un test d'immunodosage compétitif spécifiquement conçu et validé pour la mesure quantitative *in vitro* de la testostérone salivaire. La testostérone salivaire reflète de façon précise la quantité de testostérone 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 testostérone est une hormone stéroïdienne anabolisante synthétisée à partir de l'androstènedione dans les cellules de Leydig des testicules chez l'homme et, dans une moindre mesure, dans les ovaires chez la femme (2,3). Elle est aussi sécrétée en petites quantités par les glandes surrénales chez les deux sexes (4). La testostérone est également produite dans les tissus périphériques par conversion de la DHEA-S, de la DHEA et de l'androstènedione circulantes (5). La testostérone suit un rythme diurne, avec un pic le matin et un nadir vers minuit (5,6).

Chez les hommes, la testostérone joue un rôle important dans le développement des tissus reproducteurs masculins, notamment les testicules et la prostate, et favorise le développement des caractères sexuels secondaires tels qu'une masse musculaire, une masse osseuse et une pilosité plus marquées (7,8).

Dans le sang, la testostérone 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 testostérone libre pénètre dans la salive par des mécanismes intracellulaires, et la majorité de la testostérone salivaire n'est pas liée à des protéines. Le débit salivaire n'a aucune incidence sur les concentrations de testostérone salivaire (1). La corrélation entre testostérone sérique et testostérone salivaire est très élevée chez l'homme mais faible chez la femme, ce qui pourrait s'expliquer par le fait que les valeurs chez la femme sont souvent proches de la limite quantifiable des kits d'immunodosage aussi bien sériques que salivaires (9,10).

La testostérone salivaire est utilisée pour évaluer le statut androgène chez les hommes (11-13), mais également pour diagnostiquer et l'hirsutisme, le syndrome des ovaires polykystiques et le cancer du sein chez la femme (14-16).



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 testostérone présente dans les étalons et dans les échantillons entre en compétition avec la testostérone 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 testostérone 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 testostérone détectée est inversement proportionnelle à la quantité de testostérone 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 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 (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.
- 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 testostérone obtenues avec des échantillons ayant un $\text{pH} \leq 4$ ou ≥ 9 pourraient être inexactes. Un indicateur de pH dans le diluant du test de testostérone indique à l'utilisateur les échantillons ayant un pH trop bas ou trop élevé. Lors de l'ajout du diluant du test de testostérone, 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.

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'azote 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 polyclonaux anti-testostérone.	1/96 puits
2	Étalon de testostérone à gamme étendue 600 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 : testostérone, tampon, conservateur.	1 flacon/500 µL
3	Contrôles de testostérone à gamme étendue Concentration élevée (Ctrl-H), concentration faible (Ctrl-L), dans une matrice salivaire. Prêt à l'emploi. Contient : testostérone, tampon, conservateur.	2 flacons/500 µL par flacon
4	Conjugué enzymatique de la testostérone à gamme étendue Concentré. À diluer avec le diluant du test de testostérone avant utilisation. (Voir l'étape 5 de la section <i>Procédure</i> .) Contient : conjugué testostérone-peroxydase de raifort, conservateur.	1 flacon/50 µL
5	Diluant du test de testostérone 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-testostérone. Si nécessaire, ces puits peuvent être détachés et ajoutés en tant que puits à blanc (facultatif).	1 barrette



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

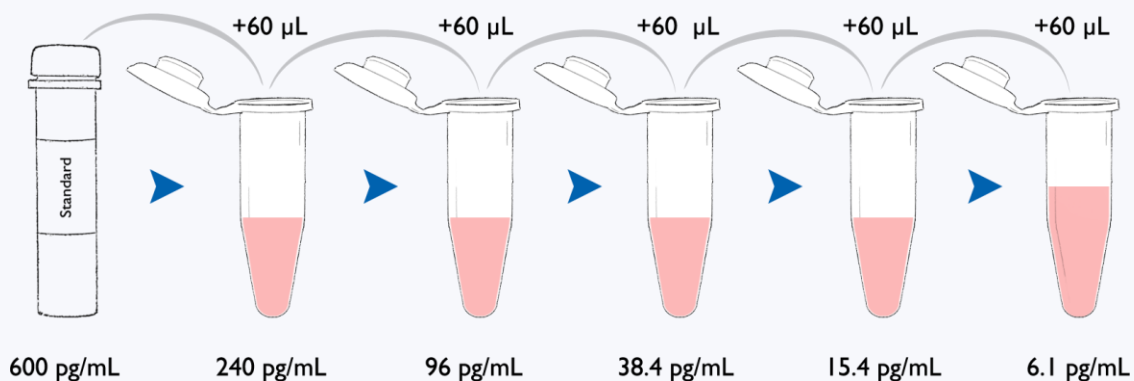
Matériel nécessaire non fourni

- Pipette de précision pouvant délivrer 18 μ L, 25 μ L et 150 μ L
- Pipette de précision multicanaux pouvant délivrer 50 μ L, 150 μ L et 200 μ L
- 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 20 mL
- 5 petits tubes en polypropylène jetables pour la dilution de l'étalon
- Embouts de pipette
- Pipette sérologique pouvant délivrer jusqu'à 18 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 du diluant du test de testostérone 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'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 de testostérone comme suit :
 - Numéroté 5 tubes de microcentrifugation en polypropylène (ou autres petits tubes) de 2 à 6.
 - Pipeter 90 µL de diluant du test de testostérone dans les tubes 2 à 6.
 - Diluer en série l'étalon 2,5× en ajoutant 60 µL de l'étalon à 600 pg/mL (tube 1) dans le tube 2. Bien mélanger.
 - Après avoir changé les embouts des pipettes, transférer 60 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 600 pg/mL, 240 pg/mL, 96 pg/mL, 38,4 pg/mL, 15,4 pg/mL et 6,1 pg/mL. Ces concentrations correspondent respectivement à 2 080,5 pmol/L, 832,2 pmol/L, 332,9 pmol/L, 133,2 pmol/L, 53,3 pmol/L et 21,3 pmol/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 600	Éta 600	Ctrl-H	Ctrl-H								
B	Éta 240	Éta 240	Ctrl-L	Ctrl-L								
C	Éta 96	Éta 96	Éch. 1	Éch. 1								
D	Éta 38,4	Éta 38,4	Éch. 2	Éch. 2								
E	Éta 15,4	Éta 15,4	Éch. 3	Éch. 3								
F	Éta 6,1	Éta 6,1	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 de testostérone 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 25 µL d'étalons, de contrôles et d'échantillons salivaires dans les puits appropriés.



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

- Pipeter 25 μ L de diluant du test de testostérone dans 2 puits qui serviront d'étalon zéro.
- Pipeter 25 μ L de diluant du test de testostérone dans chaque puits NSB.

Étape 5 : Diluer le conjugué enzymatique à une concentration de 1:1 000 en ajoutant 18 μ L de conjugué dans le tube de 18 mL contenant le diluant du test de testostérone. (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 μ L dans chaque puits à l'aide d'une pipette multicanaux.

Étape 6 : Agiter la plaque pendant 5 minutes dans un rotateur pour plaques réglé à 500 tr/min et laisser incuber à température ambiante pendant 1 heure au total.

Étape 7 : Laver la plaque 4 fois avec le tampon de lavage 1 \times . 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 μ L 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 μ L 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 μ L 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 testostérone 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.

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. Les échantillons donnant des valeurs de testostérone supérieures à 600 pg/mL doivent être dilués avec le diluant du test de testostérone 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

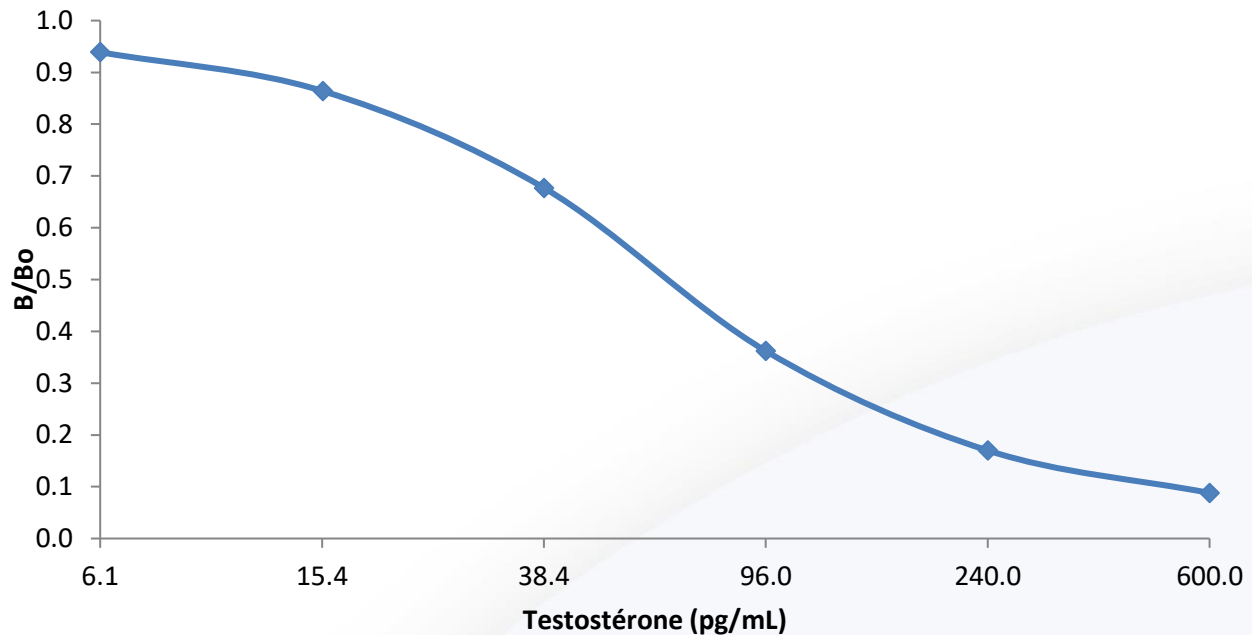
Les résultats ci-dessous sont présentés à titre indicatif uniquement et ne doivent pas être utilisés pour calculer les résultats d'un autre test.

Puits	Étalon	DO moyenne	B	B/Bo	Testostérone (pg/mL)
A1,A2	S1	0,225	0,203	0,088	600
B1,B2	S2	0,417	0,395	0,170	240
C1,C2	S3	0,863	0,841	0,362	96
D1,D2	S4	1,593	1,571	0,677	38,4
E1,E2	S5	2,026	2,004	0,864	15,4
F1,F2	S6	2,201	2,179	0,939	6,1
G1,G2	Bo	2,342	2,320	S.O.	S.O.
H1,H2	NSB	0,022	S.O.	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 testostérone à 4 paramètres



Limites

- Les échantillons donnant des valeurs de testostérone supérieures à 600 pg/mL doivent être dilués avec le diluant du test de testostérone et réanalysés afin d'obtenir des résultats corrects. Pour obtenir la concentration finale de testostérone, 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 testostérone anormales, une analyse et une évaluation supplémentaires s'imposent.

Exemples de gammes de concentrations de la testostérone salivaire*

Femme			
Âge	Moyenne (pg/mL)	IC à 95 % (pg/mL)	N
19-49	136,57	126,7-146,5	236
50-70	100,37	91,97-108,8	134

Homme			
Âge	Moyenne (pg/mL)	IC à 95 % (pg/mL)	N
19-49	198,93	191,4-206,5	693
50-70	143,77	137-150,6	212

Remarque : Les échantillons prélevés tôt le matin peuvent donner des valeurs significativement plus élevées.

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

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

Précision

La précision intra-série a été déterminée à partir des moyennes de 5 échantillons de 20 réplicats chacun.

Échantillon salivaire	N	Moyenne (pg/mL)	Écart-type (pg/mL)	Coefficient de variation (%)
I -1	20	340,37	22,97	6,7
I -2	20	123,04	2,32	1,9
I -3	20	66,13	3,27	4,9
I -4	20	26,72	1,58	5,9
I -5	20	11,85	0,79	6,7



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

La précision inter-série a été déterminée en calculant la moyenne des moyennes des duplicats pour 5 échantillons analysés avec 2 lots différents.

Échantillon salivaire	N	Moyenne (pg/mL)	Écart-type (pg/mL)	Coefficient de variation (%)
1	20	346,23	20,75	6,0
2	20	117,28	5,18	4,4
3	20	67,27	3,97	5,9
4	20	29,25	2,40	8,2
5	20	15,04	1,95	13,0

Récupération

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

Échantillon salivaire	Endogène (pg/mL)	Ajoutée (pg/mL)	Attendue (pg/mL)	Observée (pg/mL)	Récupération (%)
1	29,57	9,60	39,17	37,40	95,5
1	29,57	60,00	89,57	97,91	109,3
1	29,57	400,00	429,57	452,95	105,4
2	76,42	9,60	86,02	90,18	104,8
2	76,42	60,00	136,42	136,23	99,9
3	80,66	200,00	280,66	311,90	111,1

Sensibilité

Sensibilité analytique

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 de testostérone pouvant être distinguée de 0 est de 0,458 pg/mL.

Sensibilité fonctionnelle

La sensibilité fonctionnelle correspond à la concentration des échantillons de salive (20 réplicats, 3 analyses distinctes) donnant la concentration moyenne la plus faible ayant un coefficient de variation inférieur ou égal à 20 %. La sensibilité fonctionnelle du test de testostérone salivaire à gamme étendue est de 0,68 pg/mL.

Corrélation avec la testostérone sérique

La corrélation entre testostérone sérique et testostérone salivaire a été déterminée en analysant 29 échantillons appariés à l'aide du test de dosage radio-immunologique de la testostérone sérique de Diagnostic Systems Laboratories et du test d'EIA de la testostérone salivaire de Salimetrics (16 hommes adultes et 13 femmes). La corrélation salive/sérum était $r(29) = 0,96$, $p < 0,001$. La corrélation salive/sérum était plus élevée chez les hommes ($r[16] = 0,91$) que chez les femmes ($r[13] = 0,62$).

La relation entre sérum et salive chez les hommes déterminée par régression linéaire est : y (testostérone sérique totale en ng/mL) = $0,2421 + 0,0496 \times x$ (testostérone salivaire en pg/mL). Chez les femmes, l'équation de régression linéaire est : y (testostérone sérique totale en ng/mL) = $0,1415 + 0,0055 \times x$ (testostérone salivaire en pg/mL).



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

Récupération après dilution de l'échantillon

Deux échantillons ont été dilués en série avec le diluant du test de testostérone et ont été analysés.

Échantillon salivaire	Facteur de dilution	Attendue (pg/mL)	Observée (pg/mL)	Récupération (%)
1			71,81	
	1:2	35,91	38,08	106
	1:4	17,95	19,31	107,6
	1:8	8,98	9,69	109
2			404,67	
	1:2	202,34	196,99	97,4
	1:4	101,17	94,12	93
	1:8	50,58	47,19	93,3
	1:16	25,29	24,52	97
3			135,56	
	1:2	67,78	62,34	92
	1:4	33,89	35,86	105,8
	1:8	16,95	18,33	108,1
	1:16	8,47	8,65	102,1
4			553,88	
	1:2	276,94	296,94	107,2
	1:4	138,47	141,01	101,8
	1:8	69,24	72,59	104,8
	1:16	34,62	38,55	111,4

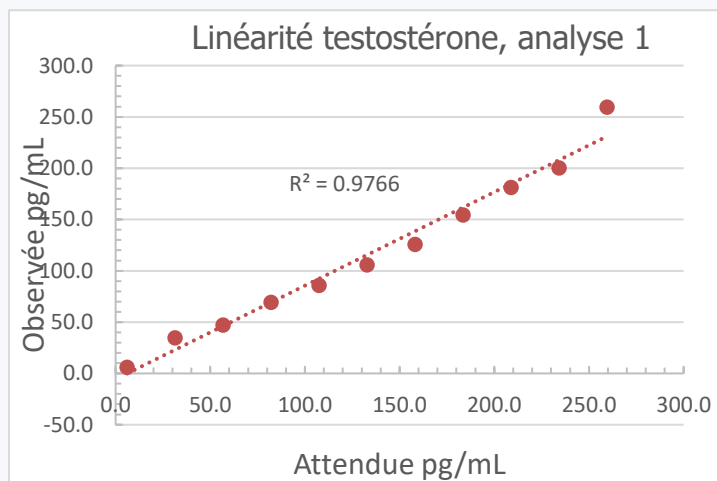


101 Innovation Boulevard • Suite 302 • State College, PA 16803
1.800.790.2258 • support@salimetrics.com • salimetrics.com

Linéarité

Deux échantillons salivaires ont été dilués l'un avec l'autre de façon proportionnelle et analysés.

Analyse 1						
ID de l'échantillon	Rep 1 pg/mL	Rep 2 pg/mL	Moyenne pg/mL	CV %	Attendue	% de récupération
L1	264,16	254,89	259,52	3	259,52	100
L2	198,65	202,02	200,34	1	234,17	86
L3	181,33	181,33	181,33	0	208,82	87
L4	153,92	154,82	154,37	0	183,47	84
L5	126,40	125,40	125,90	1	158,13	80
L6	106,44	105,08	105,76	1	132,78	80
L7	85,99	85,60	85,79	0	107,43	80
L8	69,82	68,65	69,23	1	82,08	84
L9	47,71	46,55	47,13	2	56,73	83
L10	35,89	33,66	34,78	5	31,38	111
L11	6,14	5,92	6,03	3	6,03	100



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

Spécificité de l'anticorps

Composé	Concentration après enrichissement (ng/mL)	% de réactivité croisée avec le test d'EIA de la testostérone salivaire
Aldostérone	1 000	ND
Androstènedione	10	1,157
Corticostérone	1 000	ND
Cortisol	1 000	ND
Cortisone	1 000	ND
11-désoxycortisol	1 000	ND
21-désoxycortisol	1 000	0,004
DHEA	1 000	ND
Dianabol	10	0,489
Dihydrotestostérone*	500	36,4
Épitestostérone	100	0,165
11-hydroxytestostérone	10	1,90
19-nortestostérone†	1 000	21,02
Épitestostérone	100	0,165
Œstradiol	51	0,025
Œstriol	1 000	0,012
Œstrone	1 000	0,005
Progestérone	1 000	0,005
17 α -hydroxyprogestérone	1 000	ND
Transferrine	1 000	ND

ND = non détecté (< 0,004)

* D'après la littérature, la concentration salivaire de DHT attendue chez les sujets adultes sains, sans symptôme, est inférieure à 10 pg/mL, ce qui est bien en dessous des concentrations utilisées pour tester la réactivité croisée (21,22).

† D'après la littérature, la 19-nortestostérone est absente chez les sujets sains de sexe masculin et féminin, et les concentrations atteignent leur pic (compris entre 12 et 60 pg/mL) durant le troisième trimestre de grossesse, ce qui est bien en dessous des concentrations utilisées pour tester la réactivité croisée (23).



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. Winters, S.J., & Troen, P. (1986). Testosterone and estradiol are co-secreted episodically by the human testis. *J Clin Invest*, 78(4), 870-73.
3. Burger, H.G. (2002). Androgen production in women. *Fert Steril*, 77(Suppl 4), S3-5.
4. Nakamura, Y., Hornsby, P.J., Casson, P., Morimoto, R., Satoh, F., Xing, Y., Kennedy, M.R., et al. (2009). Type 5 17 α -hydroxysteroid dehydrogenase (AKR1C3) contributes to testosterone production in the adrenal reticularis. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(6), 2192-98.
5. Ankarberg, C., & Norjavaara, E. (1999). Diurnal rhythm of testosterone secretion before and throughout puberty in healthy girls: Correlation with 17 β -estradiol and dehydroepiandrosterone sulfate. *J Clin Endocrinol Metab*, 84(3), 975-84.
6. Diver, M.J., Imtiaz, K.E., Ahmad, A.M., Vora, J.P., & Fraser, W.D. (2003). Diurnal rhythms of serum total, free and bioavailable testosterone and of SHBG in middle-aged men compared with those in young men. *Clin Endocrinol*, 58(6), 710-17.
7. Rogol, A.D., Clark, P.A., & Roemmich, J.N. (2000). Growth and pubertal development in children and adolescents: Effects of diet and physical activity. *Am J Clin Nutr*, 72(Suppl 2), 521S-8S.
8. Mantzoros, C.S., Flier, J.S., & Rogol, A.D. (1997). A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *J Clin Endocrinol Metab*, 82(4), 1066-70.
9. Shirtcliff, E.A., Granger, D.A., & Likos, A. (2002). Gender differences in the validity of testosterone measured in saliva by immunoassay. *Horm Behav*, 42(1), 62-69.
10. Rollin, G. (2010). The trials of testosterone testing. *Clin Lab News*, 36(8), 1-5.
11. Goncharov, N., Katsya, G., Dobracheva, A., Nizhnik, A., Kolesnikova, G., Herbst, V., & Westermann, J. (2006). Diagnostic significance of free salivary testosterone measurement using a direct luminescence immunoassay in healthy men and in patients with disorders of androgenic status. *Aging Male*, 9(2), 111-22.
12. Morley, J.E., Perry, H.M., 3rd, Patrick, P., Dollbaum, C.M., & Kells, J.M. (2006). Validation of salivary testosterone as a screening test for male hypogonadism. *Aging Male*, 9(3), 165-69.
13. Cardoso, E.M., Contreras, L.N., Tumilasci, E.G., Elbert, A., Aguirre, E.C., Aquilano, D.R., & Arregger, A.L. (2011). Salivary testosterone for the diagnosis of androgen deficiency in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 26(2), 677-83.
14. Karrer-Voegeli, S., Rey, F., Reymond, M.J., Meuwly, J.Y., Gaillard, R.C., & Gomez, F. (2009). Androgen dependence of hirsutism, acne, and alopecia in women: Retrospective analysis of 228 patients investigated for hyperandrogenism. *Medicine (Baltimore)*, 88(1), 32-45.
15. Szydłarska, D., Grzesiuk, W., Kondracka, A., Bartoszewicz, Z., Bar-Andziak, E. (2012). Measuring salivary androgens as a useful tool in the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Endokrynol Pol*, 63(3), 183-90.
16. Dimitrakakis, C., Zava, D., Marinopoulos, S., Tsigginou, A., Antsaklis, A., & Glaser, R. (2010). Low salivary testosterone levels in patients with breast cancer. *BMC Cancer*, 10: 547.
17. Chard, T. (1990). *An introduction to radioimmunoassay and related techniques* (4th ed.). Amsterdam: Elsevier.



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

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 Dev*, 69(6), 1503-13.
19. Kivlighan, K.T., Granger, D.A., Schwartz, E.B., Nelson, V., Curran, M., & Shirtcliff, E.A. (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.
21. Wang, C., Wakelin, K., White, J., & Wood, P.J. (1986). Salivary androgens in hirsutism: Are they of use in routine evaluation? *Ann Clin Biochem*, 23(5), 590-95.
22. Nahoul, K., Rao, L.V., & Scholler, R. (1986). Saliva testosterone time-course response to hCG in adult normal men: Comparison with plasma levels. *J Steroid Biochem*, 24(5), 1011-15.
23. Reznik, Y., Herrou, M., Dehennin, L., Lemaire, M., & Leymarie, P. (1987). Rising levels of 19-nortestosterone throughout pregnancy: Determination by radioimmunoassay and validation by gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Endocrinol Metab*, 64(5), 1086-88.



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

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 Oehleckerring 11-13 22419 Hamburg, Germany Tél. : +49 (0)89 3799666-6 www.biozol.de info@biozol.de</p> <p>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>UK CA</p>

Date de mise à jour : 6 septembre 2024



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