

Fructose Test

Диагностичен комплект за измерване на фруктоза в човешка сперма или семенна плазма

Идентификационен номер на документа: FP09 I29 R01 C.1
Актуализация: 22/12/2022

Само за *инвитро* диагностична употреба.

Реактив само за професионална употреба.

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Секретът на семенните мехурчета представлява основната част от еякулата. Концентрацията на фруктоза в семенната течност може да се използва като маркер за функцията на семенните везикули. Ниското съдържание на фруктоза в спермата е характерно за частична или пълна обструкция на еякулационния канал, двустранно вродено отсъствие на семепровод, частична ретроградна еякулация и андрогенен дефицит (WHO, 2021; ASRM, 2015).

Следователно тестът за фруктоза Fructose Test може да се използва като помощно средство при диагностицирането и лечението на мъжкото безплодие/субфертилитет.

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Fructose Test е количествен, неавтоматизиран, фотометричен и диагностичен комплект за измерване на фруктоза в човешка сперма или семенна плазма (прясна или замразена).

Fructose Test може да помогне при диагностицирането и лечението на мъжкото безплодие, тъй като фруктозата в спермата отразява секреторната функция на семенните мехурчета.

Максимално 44 проби могат да бъдат изследвани с реактивите във Fructose Test, когато пробите се изследват в две повторения в рамките на един тест.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Под въздействието на топлина и ниско рН фруктозата реагира с индола и образува цветен комплекс, който поглъща светлина с дължина на вълната 450—492 nm, която може да се измери със спектрофотометър.

МАТЕРИАЛИ, ВКЛЮЧЕНИ В ТЕСТА

- Реактив 1 – 50 ml разтвор на TCA
- Реактив 2 – 25 ml концентриран HCl (32 %)
- Реактив 3 – 3 ml индол в метанол
- Реактив 4 – 25 ml NaOH (0,5 M)
- Стандарт за фруктоза – 10 ml (5 mg/ml)

Сертификатът за анализ и MSDS се предоставят при поискване или могат да бъдат изтеглени от нашия уебсайт (www.fertipro.com).

НЕОБХОДИМИ МАТЕРИАЛИ, КОИТО НЕ СЕ ПРЕДОСТАВЯТ

Четец на плаки/фотометър (с филтър 450—492 nm), пипети и нови накрайници за пипети, центрофужни епруветки, микротитърна плака, центрофуга (≥ 1000 g), малки епруветки с реактиви или епруветки Eppendorf, водна баня или топлинен блок, аспиратор.

МЕТОД

Сканирайте баркода (или изтеглете връзката от www.fertipro.com), за да видите демонстрационния видеоклип.



Взимане и подготовка на пробите

Трябва да се използват стандартни контейнери за събиране на сперма, когато спермата се събира чрез мастурбация. Те обикновено се правят от полипропилен и се тества оцеляването/подвижността на сперматозоидите. Когато не е възможно събирането на сперма чрез мастурбация, трябва да се използват презервативи от синтетичен материал, които не са токсични за спермата.

Извършвайте теста за предпочитане върху (замразена/размразена) семенна плазма вместо върху цялата семенна проба, особено в случаите, когато пробата не се анализира веднага (т.е. не в рамките на 3 часа след еякулацията) или когато броят на сперматозоидите е висок. Това се прави, за да се избегне метаболизирането на фруктозата от сперматозоидите, което води до подценяване на концентрацията на фруктоза. Замразете семенната плазма или пробата от сперма (при -20°C без среда за криоконсервация), когато не може да бъде изследвана в същия работен ден.

Подготовка на реактива

Не използвайте продукта, ако уплътнението на бутилките е отворено или повредено при доставката на комплекта.

Всички реактиви са готови за употреба. Преди употреба оставете да се регулира до стайна температура.

Подготовка на пробата

1. Оставете семенната проба да се втечни на стайна температура.
2. Измерете общия обем на спермата (плазмата) (например със спринцовка).

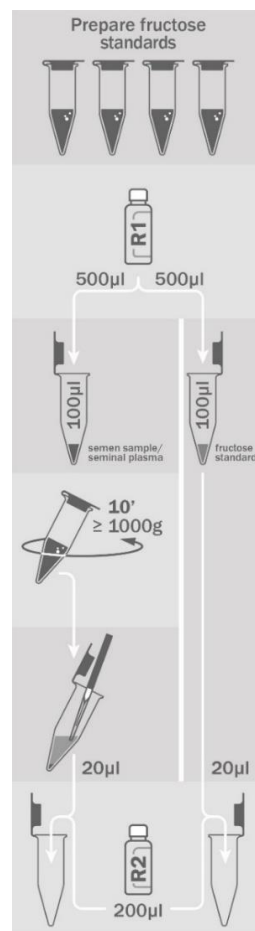
Метод за Fructose Test

Препоръки:

1. Подгответе стандартната крива и пробите в две повторения.
2. Подгответе стандартна крива с диапазон на концентрация от 0 до 5 mg/ml фруктоза, като използвате стандартна фруктоза (5 mg/ml) и пречистена (напр. дестилирана) вода:

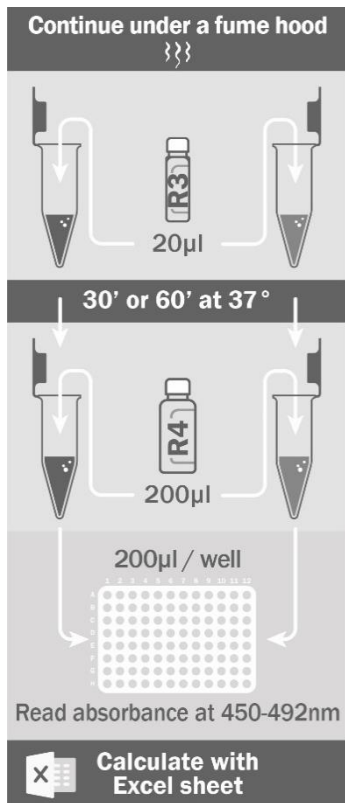
Стандарт	Стандарт за фруктоза Вода	Стандарт
5mg/ml	250 μ l	0 μ l
2.5mg/ml	125 μ l	125 μ l
1mg/ml	50 μ l	200 μ l
Празна проба	-	250 μ l

рафично представяне на протокола:



Уточнение:

1. В отделни епруветки с пипета се поставят 100 μ l семенна проба/семенна плазма и 100 μ l от стандартите за фруктоза, приготвени в стъпка 2 (за предпочитане е това да се извърши в две епруветки);
2. Добавете 500 μ l от Реактив 1 (разтвор на TCA) към пробите и стандартите и разбъркайте;
3. Центрофугирайте пробите в продължение на 10 минути при ≥ 1000 g;
4. Внимателно прехвърлете с пипета 20 μ l супернатант/стандарт в празна епруветка. Избягвайте контакт на върха на пипетата с утайките!
5. Добавете 200 μ l от Реактив 2 (HCl) във всяка епруветка;



От тази стъпка нататък работете под аспиратор (Реактив 3 е токсичен при вдишване)

- Добавете по 20 µl от Реактив 3 (индол) във всяка епруветка и разбъркайте;
- Затворете или запечатайте епруветките и инкубирайте за 30 минути при 37°C на водна баня или в подходящ топлинен блок (препоръчително) или за 60 минути при 37°C в сух инкубатор;
- Добавете 200 µl от Реактив 4, за да спрете цветната реакция;
- Пипетирайте 200 µl от пробата/стандарта в празна ямка на микротитърна плака и отчетете резултатите при 450—492 nm в плаков четещ/фотометър;
- След всеки отделен тест изхвърлете всички използвани реактиви и материали.

ТЪЛКУВАНЕ

- Осреднете показанията на повторенията за всеки стандарт и проба;
- Извадете средната стойност на абсорбцията на празната проба от всички показания на стандарта и пробата. Това е коригираната абсорбция;
- Начертайте коригираните стойности на абсорбцията за всеки стандарт като функция на концентрацията на фруктоза в стандартите;
- Изчислете линейната регресия въз основа на данните от стандартната крива; коефициентът на детерминация (R²) трябва да бъде ≥0,98;
- Екстраполирайте показанията на пробата от стандартната крива, построена по следното уравнение:

$$\text{Концентрация на фруктоза в пробите } \left(\frac{mg}{ml} \right) = \frac{OD \text{ проба коригирана} - \text{интерсепт}}{\text{наклон}}$$

- За да получите общото количество фруктоза (mg/еякулат), умножете резултата по общия обем на пробата от сперма или семенна плазма;
- Стойност от ≥ 3,0 mg фруктоза/еякулат, получена с Fructose Test, се счита за нормална.

Забележка: За бърз анализ на данните изтеглете листа за изчисляване на Excel от нашия уебсайт и въведете данните в него, за да изчислите резултатите:



ОГРАНИЧЕНИЯ НА МЕТОДА

Fructose Test е помощно средство при диагностицирането на мъжкото безплодие и, както и при другите биологични тестове, тълкуването на резултатите трябва да се извършва в рамките на клиничните данни и данните от анамнезата. Fructose Test може да определи нива на фруктоза между 0,5 и 5 mg/ml.

ЕКСПЛОАТАЦИОННИ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Повторяемост и възпроизводимост: CV_{intra} < 15%, CV_{inter} < 15%
 Обхват на измерване: 0.5-5 mg/ml
 Гранична стойност: 3,0 mg фруктоза/еякулат

СЪХРАНЕНИЕ/ИЗХВЪРЛЯНЕ

- Fructose Test е стабилен в продължение на 12 месеца от датата на производство (дори след отваряне).
- Не използвайте продукта след изтичане на срока на годност.
- Съхранявайте реактивите при температура между 2°C и 8°C.
- Пазете от (слънчева) светлина.
- Подходящ за транспортиране или краткосрочно излагане на повишени температури (до 5 дни при 25°C).
- Не замразявайте.
- Реактивите трябва да се обезвредят в съответствие с местните разпоредби за обезвреждане на медицински изделия.
- Бутилката с Реактив 2 (HCl) може леко да промени цвета си до оранжев или розов (течността остава безцветна), което не влияе на резултатите от теста.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

Реактив 1 (разтвор на TCA): Предизвиква тежки изгаряния. Силно токсичен за водните организми, може да предизвика дългосрочни неблагоприятни ефекти във водната среда. В случай на контакт с очите, изплакнете незабавно с голямо количество вода и потърсете лекарска помощ. В случай на злополука или ако не се чувствате добре, незабавно потърсете медицинска помощ.

Реактив 2 (32 % разтвор на HCl): Предизвиква изгаряния. Дразнене на дихателната система. В случай на контакт с очите, изплакнете незабавно с голямо количество вода и потърсете лекарска помощ. В случай на злополука или ако не се чувствате добре, незабавно потърсете медицинска помощ. Никога не добавяйте вода към концентриран HCl.

Реактив 3 (индол в метанол): Вреден при поглъщане. Избягвайте контакт с кожата и очите. Силно запалим. Токсичен при вдишване и поглъщане. Винаги работете под аспиратор, когато използвате този реактив.

Реактив 4 (NaOH): Предизвиква изгаряния. В случай на контакт с очите, изплакнете незабавно с голямо количество вода и потърсете лекарска помощ. В случай на злополука или ако не се чувствате добре, незабавно потърсете медицинска помощ.

Стандартът за фруктоза съдържа 0,09 % Na-азид.

Всички човешки органични материали трябва да се считат за потенциално инфекциозни. С всички проби трябва да се работи както с такива, които могат да предадат ХИВ или хепатит. Винаги носете защитно облекло при работа с проби и реактиви (ръкавици, лабораторна престилка, предпазни средства за очи/лице).

Всеки възникнал сериозен инцидент (както е дефиниран в Европейския Регламент 2017/746 за медицинските изделия за инвитро диагностика) следва да се докладва на FertiPro NV и, ако е приложимо, на компетентния орган на държавата членка на ЕС, в която е установен потребителят и/или пациентът.

ИЗПОЛЗВАНА ЛИТЕРАТУРА

WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2021
 ASRM. (2015). Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. *Fertil Steril*, 103(3), e18-25. doi:10.1016/j.fertnstert.2014.12.103

 FertiPro NV, Industriepark Noord 32
8730 Beernem - Belgium
E-mail: info@fertipro.com
URL: https://www.fertipro.com



РЕЧНИК НА СИМВОЛИТЕ

Символи, както са определени в ISO 15223			
	Каталожен номер		Код на партидата
	Да се пази от слънчева светлина		Производител
	Вижте инструкциите за употреба		Срок на годност
	Инвитро диагностика		Температурна граница
Символ, както е определен в Регламент 2017/746 (IVDR)			
	Маркировка CE от нотифициран орган 2797		
Маркировка CE от нотифициран орган 2797			
	GHS08 Сериозна опасност за здравето		GHS07 Опасност за здравето
	GHS02 Запалима течност		GHS05: Корозия/дразнене на кожата
	GHS06 Остра токсичност		GHS09 Опасен за водната среда