

# Fructose Test

Kit de diagnóstico para la medición de fructosa en semen o plasma seminal humanos

Referencia del documento: FP09 I29 R01 C.1  
Actualización: 22/12/2022

Para uso diagnóstico in vitro  
Reactivo para uso profesional únicamente.

## INFORMACIÓN GENERAL

La secreción de las vesículas seminales constituye la parte principal del eyaculado. La concentración de fructosa seminal puede utilizarse como marcador de la función de las vesículas seminales. Un nivel de fructosa bajo en el semen es característico de una obstrucción parcial o completa del conducto eyaculador, una ausencia congénita bilateral de los conductos deferentes, una eyaculación retrógrada parcial y una deficiencia de andrógenos (OMS, 2021; ASRM, 2015).

Por tanto, la Fructose Test puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de la infertilidad o la subfertilidad masculina.

## USO PREVISTO

La Fructose Test es un kit de diagnóstico fotométrico, cuantitativo y no automatizado para la medición de la fructosa en el semen o el plasma seminal humanos (fresco o congelado).

La Fructose Test puede ayudar en la evaluación del diagnóstico y el abordaje de la infertilidad masculina, puesto que la fructosa en el semen refleja la función secretora de las vesículas seminales.

Se pueden analizar un máximo de 44 muestras con los reactivos de la Fructose Test cuando las muestras se analizan por duplicado en un solo ensayo.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Por efecto del calor y de un pH bajo, la fructosa reacciona con el indol y forma un compuesto de color que absorbe la luz a una longitud de onda de 450-492 nm, que puede medirse con un espectrofotómetro.

## MATERIAL INCLUIDO CON LA PRUEBA

- Reactivo 1: 50 ml de solución de TCA
- Reactivo 2: 25 ml de HCl concentrado (32 %)
- Reactivo 3: 3 ml de indol en metanol
- Reactivo 4: 25 ml de NaOH (0,5 M)
- Patrón de fructosa: 10 ml (5 mg/ml)

Certificado de análisis y fichas de datos de seguridad (FDS) de los materiales disponibles previa solicitud o descargables desde el sitio web ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com))

## MATERIALES NECESARIOS, PERO NO SUMINISTRADOS

Fotómetro/lector de microplacas (con filtro de 450-492 nm), pipetas y puntas de pipeta nuevas, tubos de centrifuga, placa de microtitulación, centrifuga ( $\geq 1000$  G), tubos de ensayo pequeños o tubos Eppendorf, baño maría o bloque térmico, campana extractora.

## MÉTODO

Escanee el código de barras (o descargue el enlace desde [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)) para ver el vídeo de demostración.



## Recogida y preparación de muestras

Deben utilizarse recipientes de recogida de semen estándar cuando el semen se recoge por masturbación. Los recipientes suelen ser de polipropileno y se ha comprobado la supervivencia y la movilidad del esperma. Deben utilizarse preservativos de plástico no tóxico para los espermatozoides cuando no es posible la recogida del semen por masturbación.

Realice la prueba preferiblemente con plasma seminal (congelado o descongelado) en lugar de con la muestra completa de semen, especialmente en aquellos casos en los que no se analiza la muestra inmediatamente (esto es, no en las 3 horas posteriores a la eyaculación) o cuando el recuento espermático es elevado. Esto es para evitar que los espermatozoides metabolizan la fructosa, lo que produce que se infravalore su concentración. Congele el plasma seminal o la muestra de semen (a  $-20$  °C sin medio de criopreservación) cuando esta no pueda ser analizada en la misma jornada laboral.

## Preparación de los reactivos

No utilice el producto si el precinto de los frascos está abierto o si presenta defectos cuando se le entrega el kit.

Todos los reactivos están listos para usar. Permita que se atemperen a temperatura ambiente antes de usarlos.

## Preparación de las muestras

1. Deje que la muestra de semen se licúe a temperatura ambiente
2. Mida el volumen total de semen (plasma) (p. ej., con una jeringa)

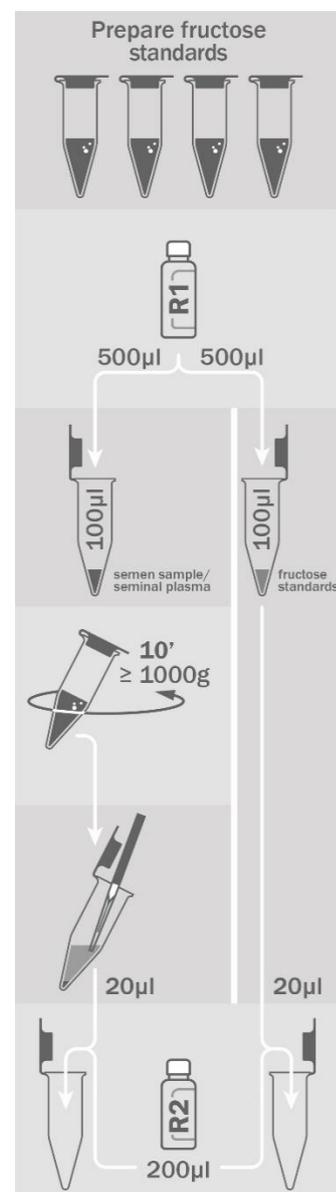
## Método de la Fructose Test

Recomendaciones:

1. Prepare la curva patrón y las muestras por duplicado.
2. Prepare la curva patrón con un intervalo de concentraciones de 0 a 5 mg/ml de fructosa con el patrón de fructosa (5 mg/ml) y agua purificada (p. ej.: destilada):

Patrón	Patrón de fructosa	Agua
5 mg/ml	250 $\mu$ l	0 $\mu$ l
2,5 mg/ml	125 $\mu$ l	125 $\mu$ l
1 mg/ml	50 $\mu$ l	200 $\mu$ l
Blanco	-	250 $\mu$ l

Representación gráfica del protocolo:



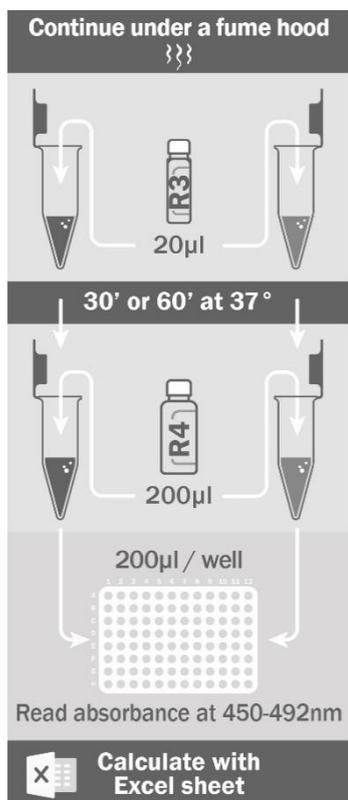
Aclaramiento:

1. Pipetee 100  $\mu$ l de la muestra de semen o de plasma seminal y 100  $\mu$ l de los patrones de fructosa preparados en el paso 2 en diferentes tubos de ensayo (realice este paso, preferiblemente, por duplicado).

- Añada 500 µl del Reactivo 1 (solución de TCA) a las muestras y los patrones y mezcle.
- Centrifugue las muestras durante 10 minutos a  $\geq 1000$  G.
- Pipetee con cuidado 20 µl del sobrenadante/patrón en un tubo de ensayo vacío. Evite el contacto de la punta de la pipeta con los precipitados.
- Añada 200 µl del Reactivo 2 (HCl) a cada tubo.

- Se considera como valor normal un valor de  $\geq 3,0$  mg de fructosa/eyaculado obtenido con la prueba de fructosa.

**Nota:** para realizar un análisis rápido de los datos, descargue la hoja de cálculo Excel de nuestro sitio web e introduzca los datos en dicha hoja para calcular los resultados:



**A partir de este paso, trabaje con campana extractora (el Reactivo 3 es tóxico por inhalación)**

- Añada 20 µl del Reactivo 3 (indol) a cada tubo y mezcle.
- Cierre o selle los tubos e incúbelos durante 30 minutos a 37 °C al baño maría o en un bloque térmico (recomendado), o durante 60 minutos a 37 °C en una incubadora seca.
- Añada 200 µl del Reactivo 4 para detener la reacción de cambio de color.
- Pipetee 200 µl de la muestra/patrón en un pocillo vacío de la placa de microtitulación y lea los resultados a 450-492 nm en un lector/fotómetro de microplacas.
- Después de cada prueba individual, elimine todos los reactivos y materiales utilizados.

### INTERPRETACIÓN

- Calcule la media de las lecturas duplicadas para cada uno de los patrones y muestras.
- Reste el valor de absorbancia media del blanco de todas las lecturas de los patrones y las muestras. El resultado es la absorbancia corregida.
- Realice un gráfico con los valores de absorbancia corregida para cada patrón en función de la concentración de fructosa de los patrones.
- Calcule la regresión lineal en función de los datos de su curva patrón; el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) debe ser  $\geq 0,98$ .
- Extrapolé las lecturas de las muestras a partir de la curva patrón trazada utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Fructose concentration of samples } \left( \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{OD \text{ sample}_{corrected} - \text{intercept}}{\text{slope}}$$

- Para obtener la cantidad total de fructosa (mg/eyaculado), multiplique el resultado por el volumen total de la muestra de semen o de plasma seminal.

### LIMITACIONES DEL MÉTODO

La Fructose Test sirve de ayuda en el diagnóstico de la infertilidad masculina y, al igual que otras pruebas biológicas, la interpretación de los resultados debe realizarse en el marco de los hallazgos clínicos y los datos de la anamnesis. La Fructose Test puede determinar niveles de fructosa entre 0,5 y 5 mg/ml.

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Repetibilidad y reproducibilidad:  $CV_{intra} < 15 \%$ ,  $CV_{inter} < 15 \%$

Intervalo de medición: 0,5-5 mg/ml

Límite: 3,0 mg de fructosa/eyaculado

### CONSERVACIÓN/ELIMINACIÓN

- La Fructose Test se mantiene estable durante 12 meses a partir de la fecha de fabricación (incluso después de la apertura).
- No utilizar el producto después de la fecha de caducidad.
- Almacenar los reactivos a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C.
- Mantener alejado de la luz (solar).
- Adecuado para el transporte o la exposición a corto plazo a temperaturas elevadas (hasta 5 días a 25 °C).
- No congelar
- Los reactivos deben eliminarse de conformidad con la normativa local para la eliminación de productos sanitarios.

El frasco con el Reactivo 2 (HCl) puede mostrar un leve cambio de color a naranja o rosa (el líquido sigue siendo incoloro), pero no afecta a los resultados de la prueba.

### ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Reactivo 1 (solución de TCA): provoca quemaduras graves. Muy tóxico para los organismos acuáticos; puede provocar efectos nocivos a largo plazo sobre el medio acuático. En caso de contacto con los ojos, aclarar inmediatamente con agua abundante y consultar a un médico. En caso de accidente o malestar, consultar a un médico inmediatamente.

Reactivo 2 (solución de HCl 32 %): provoca quemaduras. Irritante del sistema respiratorio. En caso de contacto con los ojos, aclarar inmediatamente con agua abundante y consultar a un médico. En caso de accidente o malestar, consultar a un médico inmediatamente. No añadir agua nunca al HCl concentrado.

Reactivo 3 (indol en metanol): nocivo por ingestión. Evitar el contacto con la piel y los ojos. Muy inflamable. Tóxico por inhalación y por ingestión. **Trabaje siempre bajo una campana extractora cuando utilice este reactivo.**

Reactivo 4 (NaOH): provoca quemaduras. En caso de contacto con los ojos, aclarar inmediatamente con agua abundante y consultar a un médico. En caso de accidente o malestar, consultar a un médico inmediatamente.

El patrón de fructosa contiene azida de sodio al 0,09 %

Todo el material orgánico humano debe considerarse como potencialmente infeccioso. Manipular todas las muestras como si fueran posibles transmisoras del VIH o la hepatitis. Utilizar siempre ropa de protección al manipular las muestras y los reactivos (guantes, bata de laboratorio, protección facial/ocular).

Cualquier incidente grave (tal como se define en el Reglamento [UE] 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*) debe notificarse a FertiPro N.V. y, si procede, a la autoridad competente del Estado miembro de la UE en el que esté establecido el usuario o paciente.

### BIBLIOGRAFÍA

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 (Bélgica)  
Correo electrónico: info@fertipro.com  
URL: https://www.fertipro.com



FRUCTO

GLOSARIO DE SÍMBOLOS

Símbolos definidos en la norma ISO 15223			
	Número de catálogo		Número de lote
	Mantener alejado de la luz (solar)		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso		Fecha de caducidad
	Diagnóstico <i>in vitro</i>		Límite de temperatura
Símbolo definido en el Reglamento (UE) n.º 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>			
	Marcado CE por la Entidad notificada n.º 2797		
Símbolo definido en el Reglamento (CE) n.º 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Riesgo grave para la salud		GHS07 Riesgo para la salud
	GHS02 Líquido inflamable		GHS05 Corrosivo/irritante para la piel
	GHS06 Toxicidad aguda		GHS09 Peligroso para el medio ambiente acuático

