

Fructose Test

96 Tests



TEST PHOTOMETRIQUE DE QUANTIFICATION DU FRUCTOSE DANS LE PLASMA SEMINAL HUMAIN

REFERENCE DU DOCUMENT : FP09 I29 R01 B.12 MISE A JOUR : 01/07/2020

Le témoin de fructose contient 0,09 % d'azote de Na.

Usage diagnostique in vitro (DIV) - Réactif réservé à l'usage professionnel.

INFORMATIONS GÉNÉRALES

Le test Fructose vise à mesurer la quantité de fructose dans le sperme ou le plasma séminal humain. Le fructose du sperme est le reflet de la fonction sécrétoire des vésicules séminales. Le test Fructose peut contribuer à évaluer le diagnostic et la prise en charge de la stérilité masculine.

PRINCIPE DU TEST

Le fructose réagit, en présence de HCl sous la chaleur, avec de l'indole et produit un complexe coloré qui peut être mesurée à une longueur d'onde de 450 à 492 nm

MATÉRIEL FOURNI DANS LE KIT

- Réactif 1 – Solution TCA 50 ml
- Réactif 2 – HCl concentré (32 %) 25 ml
- Réactif 3 – Indole et méthanol 3 ml
- Réactif 4 – NaOH (0,5 M) 25 ml
- Témoin de fructose – 10 ml (5 mg/ml)

Un certificat d'analyse et une FDS sont disponibles sur demande ou au téléchargement sur notre site internet (www.fertipro.com).

MATÉRIEL NON FOURNI DANS LE KIT

Lecteur de plaques/Photomètre (avec filtre de 450-492 nm), pipettes et embouts, tubes à centrifugation, plaque de titrage, centrifugeuse (> 1000 g), petits tubes pour réactif ou tubes d'Eppendorf, bain-marie ou bloc chauffant.

TYPE D'ÉCHANTILLON

Effectuer le test de préférence sur le plasma de sperme (congelé / décongelé) au lieu de l'échantillon de sperme entier, en particulier dans les cas où l'échantillon n'est pas analysé immédiatement (c'est-à-dire pas dans les 3 heures suivant l'éjaculation). Ceci, afin d'éviter que les spermatozoïdes métabolisent le fructose, ce qui entraîne une sous-estimation des concentrations de fructose. Congeler le plasma séminal si le test ne peut pas être effectué le jour d'éjaculation.

MÉTHODE

Nous recommandons de regarder notre vidéo de démonstration avant de commencer le test. Télécharger par le lien sur notre site Internet, ou scanner le code-barres:



1. Laisser l'échantillon de sperme se liquéfier à température ambiante
2. Mesurer le volume total de sperme (plasma) (au moyen d'une seringue stérile, p. ex.)
3. Pipetter 100 µl de l'échantillon de sperme/plasma séminal dans des tubes à essai séparés
4. Pipetter 100 µl de témoins de fructose (voir ci-dessous comment préparer les témoins) dans un tube à essai et traiter comme un échantillon de sperme
5. Ajouter 0,5 ml de réactif 1 aux échantillons (et aux témoins) et mélanger
6. Centrifuger pendant 10 minutes à 1 000 g ou plus
7. Pipetter 20 µl de surnageant/témoin de l'étape 5 dans un petit tube pour réactif ou un tube d'Eppendorf vide
8. Échantillon témoin : pipetter 20 µl d'eau purifiée dans un petit tube pour réactif ou un tube d'Eppendorf vide
9. Ajouter 200 µl de réactif 2 (HCl) dans chacun des tubes
- Remarque:** Effectuez l'étape 10-13 sous une hotte comme réactif 3 est toxique par inhalation (voir mises en garde et précautions)
10. Ajouter 20 µl de réactif 3 (indole) dans chacun des tubes
11. Fermer ou sceller les tubes et incuber pendant 30 minutes à 37 °C au bain-marie ou à l'aide de bloc chauffant, ou 60 minutes à 37 °C dans un incubateur à sec
12. Ajouter 200 µl de réactif 4 pour arrêter la réaction de coloration.
13. Pipetter 200 µl d'échantillon dans un puits vide et lire les résultats à 450-492 nm dans un lecteur de plaques

TÉMOINS DE FRUCTOSE

Le kit contient une solution de fructose à 5 mg/ml. Préparer une courbe témoin avec les concentrations de fructose suivantes :

Témoin	Fructose	Eau
5 mg/ml	100 µl	0 µl
2,5 mg/ml	50 µl	50 µl
1 mg/ml	20 µl	80 µl

Remarque: préparer les dilutions du témoin avec de l'eau purifiée (eau distillée, p. ex.).

INTERPRÉTATION

Télécharger la feuille de calcul sur notre site internet et entrer les données afin de calculer les résultats :

<https://fertipro.com/2019/11/07/fructose-test/>

La valeur mesurée (DO) pour l'échantillon est placée sur le graphique pour la comparer à la courbe témoin (en utilisant les 3 témoins mentionnés plus haut), en plaçant la DO sur l'axe des Y et la concentration en fructose sur l'axe des X. Pour obtenir les quantités totales de fructose, multiplier le résultat par le volume total de l'échantillon de sperme ou de plasma séminal.

Valeurs normales selon le manuel de l'OMS :

- 2,4 mg/éjaculat ou plus
- 13 µmol/éjaculat ou plus

Remarque : la courbe témoin descend de façon linéaire jusqu'à 0,5 mg/ml; les quantités inférieures de fructose ne peuvent être mesurées avec précision avec ce kit.

Une faible concentration en fructose dans le sperme peut révéler une obstruction des canaux éjaculateurs, une absence congénitale bilatérale du canal déférent, une éjaculation rétrograde partielle ou une carence androgénique (OMS, 2010).

PARAMETRES DE PERFORMANCE D'ANALYSE

Intra-dosage CV : 8% (répétabilité)

Intra-dosage CV : 13% (précision totale)

CONSERVATION

Le produit est stable après transport (maximum 5 jours) à température élevée (≤ 37°C). Conserver les réactifs entre 2 °C et 8 °C. Garder à l'abri de la lumière. Le produit peut être utilisé pendant 12 mois après la date de production.

Le flacon contenant le réactif 2 (HCl) peut montrer une légère variation de couleur vers l'orange ou le rose (le liquide reste incolore), qui n'influe pas sur les résultats du test.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Réactif 1 (solution de TCA): Provoque des brûlures graves. Très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.

Réactif 2 (solution d'HCl à 32 %): Provoque des brûlures. Irritant pour les voies respiratoires. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin. Ne jamais ajouter d'eau à l'HCl concentré.

Réactif 3 (Indole dans méthanol): Nocif si ingéré. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Hautement inflammable. Toxique par inhalation et par ingestion. **Toujours travailler sous une hotte lors de l'utiliser ce réactif.**

Réactif 4 (NaOH): Provoque des brûlures. En cas de contact avec les yeux, rincer immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.

L'ensemble du matériel organique humain doit être considéré comme potentiellement infectieux. Manipuler tous les échantillons dans les conditions prévues pour les agents susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons et du réactif (gants, blouse de laboratoire, protection oculaire/du visage).

CALCUL DES FORCES G

La force g de votre centrifugeuse peut être calculée au moyen de la formule suivante:

$$g = 1,118 \times r \times \text{tpm}^2 \quad \text{ou} \quad \text{tpm} = \sqrt{g / (1,118 \times r)}$$

r = rayon de la centrifugeuse en mm

tpm = tours par minutes/1000

Ex. 1

$$r = 100 \text{ mm} \quad \text{tpm} = 3 \text{ 000 tours par minute}$$
$$g = 1,118 \times 100 \times 9 = \underline{1 \text{ 006 g}}$$

Ex. 2

$$r = 100 \text{ mm} \quad g = 1 \text{ 200 g}$$
$$\text{tpm} = \text{RC} \{1 \text{ 200} / (1,118 \times 100)\} = 3,28 = \underline{3 \text{ 280 tours par minute}}$$

BIBLIOGRAPHIE

WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen - 5th Edition. World Health Organization, 2010



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem - Belgique
E-mail : info@fertipro.com
URL : <http://www.fertipro.com>

REF FRUCTO