

# Fructose Test

Kit de diagnóstico para dosagem de frutose em sêmen humano ou plasma seminal

Referência do documento: FP09 I29 R01 C.1  
Atualização: 22/12/2022

Para uso em diagnóstico in vitro  
Reagente apenas para uso profissional.

## INFORMAÇÕES GERAIS

A secreção das vesículas seminais constitui a principal fração do ejaculado. A concentração de frutose no sêmen pode ser usada como um marcador da função vesicular seminal. A baixa frutose no sêmen é característica de obstrução parcial ou completa do ducto ejaculatório, ausência congênita bilateral do ducto deferente, ejaculação retrógrada parcial e deficiência androgênica (OMS, 2021; ASRM, 2015). Portanto, o Fructose Test pode ser usado como auxiliar no diagnóstico e tratamento da infertilidade/subfertilidade masculina.

## USO PRETENDIDO

O Fructose Test é um kit quantitativo, não automatizado, fotométrico e diagnóstico para dosagem de frutose em sêmen humano ou plasma seminal (fresco ou congelado).

O Fructose Test pode ajudar na avaliação do diagnóstico e tratamento da infertilidade masculina, pois a frutose no sêmen reflete a função secretora das vesículas seminais.

Um máximo de 44 amostras podem ser testadas com os reagentes no Fructose Test quando as amostras são testadas em duplicata numa execução de teste.

## PRINCÍPIO DO TESTE

Sob a influência do calor e do baixo pH, a frutose reage com o indol e forma um complexo colorido, que absorve a luz num comprimento de onda de 450-492 nm que pode ser medido com um espectrofotômetro.

## MATERIAL INCLUSO NO TESTE

- Reagente 1 - 50 ml de solução de TCA
- Reagente 2 - 25 ml HCl concentrado (32%)
- Reagente 3 - 3 ml Indol em metanol
- Reagente 4 - 25 ml de NaOH (0,5M)
- Padrão de frutose - 10 ml (5 mg/ml)

Um certificado de análise e FISPQ estão disponíveis mediante solicitação ou podem ser baixados de nosso site ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com))

## MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS

Leitor de placas/fotômetro (com filtro 450-492 nm), pipetas e pontas de pipeta frescas, tubos de centrifuga, placa de microtitulação, centrífuga ( $\geq 1000$  g), pequenos tubos de reagente ou tubos Eppendorf, banho-maria ou bloco de calor, exaustor.

## MÉTODO

Faça a leitura do código de barras (ou baixe o link em [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)) para ver o vídeo de demonstração.



## Coleta e preparação das amostras

Recipientes padrão de coleta de sêmen devem ser usados, tipicamente em polipropileno e sobrevivência/motilidade espermática testada, quando o sêmen é coletado por masturbação. Preservativos de plástico não tóxicos para o sêmen devem ser usados quando a coleta de sêmen por masturbação não for possível.

Realize o teste preferencialmente em plasma de sêmen (congelado/descongelado) em vez de toda a amostra de sêmen, especialmente nos casos em que a amostra não é analisada imediatamente (ou seja, não dentro de 3 horas após a ejaculação) ou quando a contagem de espermatozoides é alta. Isso para evitar que os espermatozoides metabolizem frutose, levando a uma subestimação da concentração de frutose. Congelar a amostra de plasma ou sêmen seminal (a  $-20^{\circ}\text{C}$  sem meio de criopreservação) quando não puder ser testado no mesmo dia útil.

## Preparação dos reagentes

Não utilize o produto se o selo das garrafas estiver aberto ou defeito quando o kit é for entregue.

Todos os reagentes estão prontos para uso. Deixe ajustar à temperatura ambiente antes de usar.

## Preparação da amostra

1. Permita que a amostra de sêmen se liquefaça à temperatura ambiente
2. Meça o volume total de sêmen (plasma) (por exemplo, com uma seringa)

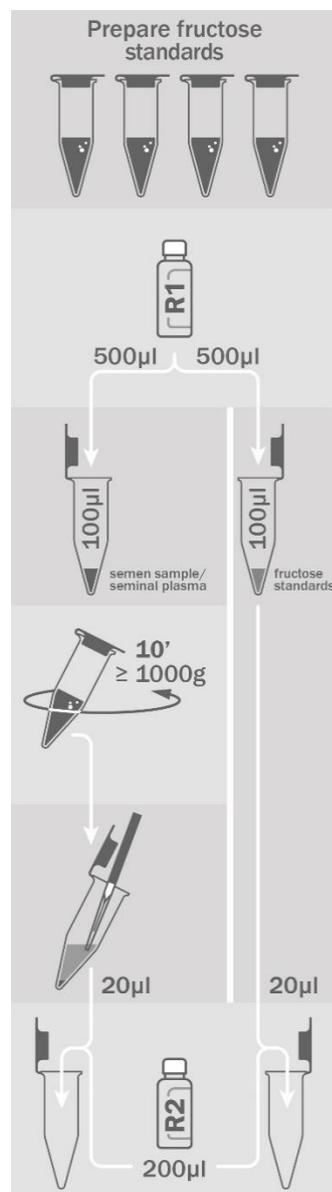
## Método de Fructose Test

Recomendações:

1. Prepare a curva padrão e as amostras em duplicata.
2. Preparar a curva padrão com um intervalo de concentração de 0 a 5 mg/ml de frutose utilizando o Fructose Standard (5mg/ml) e água purificada (por exemplo, destilada):

Padrão	Padrão de frutose	Água
5 mg/ml	250 $\mu\text{l}$	0 $\mu\text{l}$
2,5 mg/ml	125 $\mu\text{l}$	125 $\mu\text{l}$
1 mg/ml	50 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$
Em branco	-	250 $\mu\text{l}$

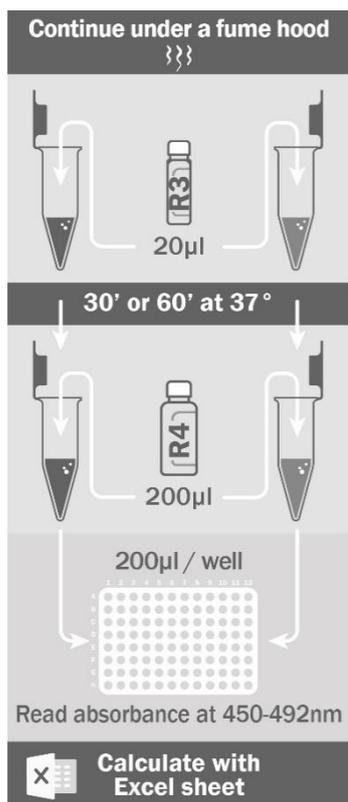
Apresentação gráfica do protocolo:



Esclarecimento:

1. Pipetar 100 $\mu\text{L}$  de amostra de sêmen/plasma seminal e 100 $\mu\text{L}$  dos padrões de frutose preparados na etapa 2 em tubos de ensaio separados (realize este procedimento de preferência em duplo);
2. Adicionar 500 $\mu\text{L}$  do Reagente 1 (solução TCA) às amostras e padrões e misturar;

- Centrifugar as amostras por 10 minutos a  $\geq 1000$  g;
- Pipetar cuidadosamente 20  $\mu$ L de sobrenadante/padrão num tubo de ensaio vazio. Evite o contato da ponta da pipeta com os precipitados!
- Adicionar 200  $\mu$ L do Reagente 2 (HCl) a cada tubo;



**A partir desta etapa, trabalhe num exaustor (o reagente 3 é tóxico por inalação)**

- Adicionar 20  $\mu$ L do Reagente 3 (indol) a cada tubo e misturar;
- Fechar ou selar os tubos e incubar por 30 minutos a 37°C num banho-maria ou bloco de calor de encaixe (recomendado), ou por 60 minutos a 37°C numa incubadora seca;
- Adicionar 200  $\mu$ L do Reagente 4 para parar a reação de cor;
- Pipetar 200  $\mu$ L de amostra/padrão em um poço vazio da placa de microtitulação e ler os resultados a 450-492 nm num leitor de placa/fotômetro.
- Após cada teste individual, descarte todos os reagentes e materiais usados.

## INTERPRETAÇÃO

- Média da leitura duplicada para cada padrão e amostra;
- Subtraia o valor médio de absorbância do espaço em branco de todas as leituras padrão e da amostra. Esta é a absorbância corrigida.
- Trace os valores de absorbância corrigidos para cada padrão como uma função da concentração de frutose dos padrões;
- Calcule a regressão linear com base nos dados da sua curva padrão; O coeficiente de determinação ( $R^2$ ) deve ser  $\geq 0,98$
- Extrapole as leituras da amostra da curva padrão plotada usando a seguinte equação:

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

- Para obter a quantidade total de frutose (mg/ejaculado), multiplique o resultado pelo volume total da amostra de sêmen ou plasma seminal.
- Um valor de  $\geq 3,0$  mg de frutose/ejaculado obtido com o Fructose Test é considerado como um valor normal.

Nota: para uma análise rápida dos dados, baixe a folha de cálculo do Excel do nosso site e insira os dados na folha para calcular os resultados:



## LIMITAÇÕES DO MÉTODO

O Fructose Test é um auxílio no diagnóstico da infertilidade masculina e, assim como para outros testes biológicos, a interpretação dos resultados deve ser realizada no âmbito dos achados clínicos e dos dados da anamnese. O Fructose Test pode determinar os níveis de frutose entre 0,5-5 mg/ml.

## CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Repetibilidade e reprodutibilidade:  $CV_{intra} < 15\%$ ,  $CV_{inter} < 15\%$

Faixa de medição: 0,5-5 mg/ml

Ponto de corte: 3,0 mg de frutose/ejaculação

## ARMAZENAMENTO/ELIMINAÇÃO

- O Fructose Test é estável por 12 meses a partir da data de fabricação (mesmo após a abertura).
- Não use o produto após a data de validade.
- Armazene os reagentes entre 2°C e 8°C.
- Mantenha afastado da luz (do sol).
- Adequado para transporte ou exposição a curto prazo a temperaturas elevadas (até 5 dias a 25°C)
- Não congelar
- Os reagentes precisam ser descartados de acordo com os regulamentos locais para descarte de dispositivos médicos.

O frasco com o Reagente 2 (HCl) pode apresentar uma ligeira alteração de cor para laranja ou rosa (o líquido permanece incolor), o que não afeta os resultados dos ensaios.

## AVISOS E PRECAUÇÕES

Reagente 1 (solução TCA): Causa queimaduras graves. Muito tóxico para os organismos aquáticos, pode causar efeitos adversos a longo prazo no ambiente aquático. Em caso de contato com os olhos, enxaguar imediatamente com água e procurar orientação médica. Em caso de acidente ou se você não estiver bem, procure aconselhamento médico imediatamente.

Reagente 2 (solução de HCl a 32%): Provoca queimaduras. Irritante para o sistema respiratório. Em caso de contato com os olhos, enxaguar imediatamente com água e procurar orientação médica. Em caso de acidente ou se você não estiver bem, procure aconselhamento médico imediatamente. Nunca adicione água ao HCl concentrado.

Reagente 3 (indol em metanol): Nocivo se ingerido. Evite o contato com a pele e os olhos. Altamente inflamável. Tóxico por inalação e por ingestão. **Sempre trabalhe sob um exaustor ao usar este reagente.**

Reagente 4 (NaOH): Provoca queimaduras. Em caso de contato com os olhos, enxaguar imediatamente com água e procurar orientação médica. Em caso de acidente ou se você não estiver bem, procure aconselhamento médico imediatamente.

O padrão de frutose contém 0,09% de Na-azida

Todo material orgânico humano deve ser considerado potencialmente infeccioso. Manuseie todas as amostras como se fossem capazes de transmitir HIV ou hepatite. Use sempre roupas de proteção ao manusear amostras e reagentes (luvas, jaleco, proteção ocular/facial).

Qualquer incidente grave (conforme definido no "Regulamento Europeu de Dispositivos Médicos para Diagnóstico In Vitro 2017/746) que tenha ocorrido, deve ser relatado à FertiPro NV e, se aplicável, à autoridade competente do Estado Membro da UE em que o usuário e/ou paciente está estabelecido.

## BIBLIOGRAFIA

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

## SUPORTE TÉCNICO

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



**REF** FRUCTO

## GLOSSÁRIO DE SÍMBOLOS

Símbolos conforme definido pela norma ISO 15223			
	Número do catálogo		Código do lote
	Mantenha afastado da luz (do sol)		Fabricante
	Consulte as instruções de uso		Data de validade
	Diagnóstico in vitro		Limite de temperatura
Símbolo conforme definido pela norma IVDR 2017/746			
	Marcação CE por Órgão Notificado 2797		
Símbolo definido conforme a Norma (EC) No. 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Perigo grave para a saúde		GHS07 Perigo para a saúde
	GHS02 Líquido inflamável		GHS05 Corrosão/irritação cutânea
	GHS06 Toxicidade aguda		GHS09 Perigoso para o ambiente aquático