

# Fructose Test

Diagnostická súprava na meranie fruktózy v ľudskej sperme alebo semennej plazme

ID dokumentu: FP09 I29 R01 C.1  
Aktualizácia: 22/12/2022

Len na diagnostické použitie in vitro.

Reagencia je určená len na profesionálne použitie.

## VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Hlavnú časť ejakulátu tvorí sekrécia semenných mechúrikov. Koncentrácia fruktózy v semene sa môže použiť ako marker funkcie semenných mechúrikov. Nízka fruktóza v sperme je charakteristická pre čiastočnú alebo úplnú obštrukciu ejakulačných kanálov, obojstrannú vrodenú absenciu semenovodov, parciálnu retrográdnú ejakuláciu a androgénny deficit (WHO, 2021; ASRM, 2015).

Preto Fructose Test možno použiť ako pomôcku pri diagnostike a liečbe neplodnosti/zníženej plodnosti u mužov.

## URČENÉ POUŽITIE

Fructose Test je kvantitatívna, neautomatizovaná, fotometrická a diagnostická súprava na meranie fruktózy v ľudskej sperme alebo semennej plazme (čerstvej alebo zmrazenej). Fructose Test môže pomôcť pri diagnostike a liečbe neplodnosti u mužov, pretože fruktóza v semene odzrkadľuje sekrečnú funkciu semenných mechúrikov.

Ak sa vzorky testujú duplicitne v jednej testovacej sérii, možno testovať maximálne 44 vzoriek s reagentami, ktoré obsahuje Fructose Test.

## PRINCÍP TESTU

Vplyvom tepla a nízkeho pH reaguje fruktóza s indolom a vytvára farebný komplex, ktorý absorbuje svetlo s vlnovou dĺžkou 450 – 492 nm, ktorú možno merať spektrofotometrom.

## MATERIÁL DODÁVANÝ S TESTOM

- Reagencia 1 – 50 ml roztoku TCA
- Reagencia 2 – 25 ml koncentrovanej HCl (32 %)
- Reagencia 3 – 3 ml indolu v metanole
- Reagencia 4 – 25 ml NaOH (0.5 M)
- Štandard fruktózy – 10 ml (5 mg/ml)

Osvedčenie o analýze a doklad o bezpečnosti materiálu (MSDS) sú k dispozícii na požiadanie alebo si ich môžete stiahnuť z webovej stránky ([www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)).

## POTREBNÝ MATERIÁL, KTORÝ NIE JE SÚČASŤOU DODÁVKY

Snímač platničiek/fotometer (s filtrom 450 – 492 nm), pipety s novými špičkami, centrifugačné skúmavky, mikrotitračná platnička, odstredivka ( $\geq 1000 \times g$ ), malé skúmavky na reagenty alebo skúmavky Eppendorf, vodný kúpeľ alebo tepelný blok, digestor.

## METÓDA

Naskenujte čiarový kód (alebo použite odkaz na stránke [www.fertipro.com](http://www.fertipro.com)) a pozrite si video s ukážkou.



## Odber a príprava vzoriek

Pri odbere spermií masturbáciou by sa mali používať štandardné nádoby na odber spermií. Tieto nádoby sú zvyčajne z polypropylénu a testuje sa v nich prežitie spermií/pohyblivosť spermií. Ak odber spermy masturbáciou nie je možný, je potrebné používať plastové kondómy, ktoré nie sú pre spermu toxické.

Ak je to možné, test vykonajte na (zmrazenej/rozmrazenej) semennej plazme, a nie na celej vzorke spermií, najmä v prípadoch, keď sa vzorka neanalyzuje ihneď (t. j. nie do troch hodín po ejakulácii) alebo keď je počet spermií vysoký. Tým zabránite metabolizovaniu fruktózy spermiami, čo by viedlo k podhodnoteniu koncentrácie fruktózy. Semennú plazmu alebo vzorku spermy zmrazte (pri  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  bez kryokonzervačného média), ak test nemožno vykonať v ten istý pracovný deň.

## Príprava reagencií

Výrobok nepoužívajte, ak pri dodaní súpravy je uzáver fľaše otvorený alebo poškodený.

Všetky reagenty sú pripravené na použitie. Pred použitím nechajte temperovať na izbovú teplotu.

## Príprava vzorky

1. Vzorku spermy nechajte skvapalniť pri izbovej teplote.
2. Zmerajte celkový objem spermy (plazmy) (napr. injekčnou striekačkou).

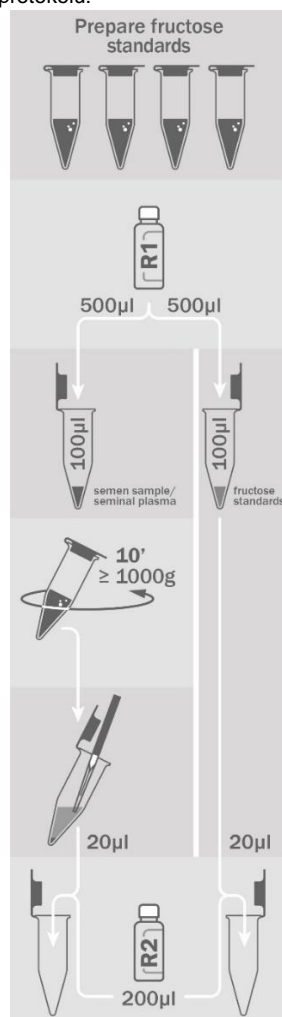
## Metóda Fructose Test

Odporúčania:

1. Pripravte štandardnú krivku a vzorky v dvoch exemplároch.
2. Pripravte štandardnú krivku s rozsahom koncentrácií od 0 do 5 mg/ml fruktózy pomocou prípravku Štandard fruktózy (5 mg/ml) a prečistenej (napr. destilovanej) vody:

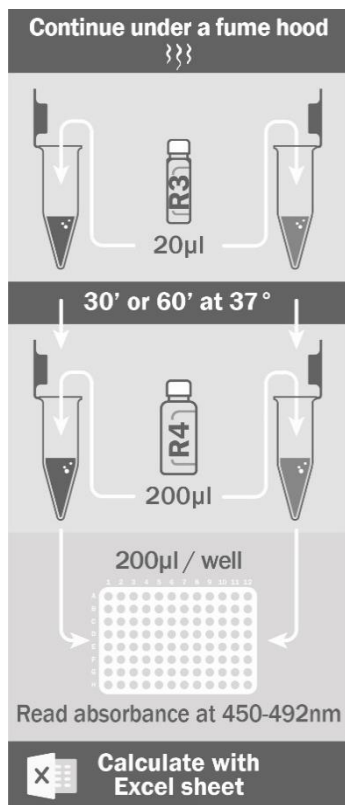
Štandard	Štandard fruktózy	Vodný
5mg/ml	250 $\mu\text{l}$	0 $\mu\text{l}$
2.5mg/ml	125 $\mu\text{l}$	125 $\mu\text{l}$
1mg/ml	50 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$
Празна проба	-	250 $\mu\text{l}$

Grafické znázornenie protokolu:



Vysvetlenie:

1. Do samostatných skúmaviek napipetujte 100  $\mu\text{l}$  vzorky spermy/semenej plazmy a 100  $\mu\text{l}$  štandardov fruktózy pripravených v kroku 2 (podľa možnosti v dvoch skúmavkách);
2. Pridajte 500  $\mu\text{l}$  reagenty 1 (roztok TCA) do vzoriek a štandardov a premiešajte;
3. Vzorky odstredujte 10 minút pri  $\geq 1000 \times g$ ;
4. Opatrne napipetujte 20  $\mu\text{l}$  supernatantu/štandardu do prázdnej skúmavky. Zabráňte kontaktu hrotu pipety s precipitátmi!
5. Do každej skúmavky pridajte 200  $\mu\text{l}$  reagenty 2 (HCl);



**Od tohto kroku pracujte v digestore (reagencia č. 3 je pri vdýchnutí toxická)**

- Do každej skúmavky pridajte 20 µl reagencie č. 3 (indol) a premiešajte;
- Uzavrite alebo utesnite skúmavky a inkubujte 30 minút pri 37 °C vo vodnom kúpeli alebo vhodnom vyhrievacom bloku (odporúča sa) resp. 60 minút pri 37 °C v suchom inkubátore;
- Pridajte 200 µl reagencie č. 4 na zastavenie reakcie farbenia;
- Napipetujte 200 µl vzorky/štandardu do prázdnej jamky mikrotitračnej platničky a odčítajte výsledky pri 450 – 492 nm pomocou snímača platničiek/fotometra;
- Po každom teste zlikvidujte všetky použité reagencie a materiály.

**INTERPRETÁCIA**

- Spriemerujte duplicitne odčítané hodnoty každého štandardu a vzorky;
- Od všetkých nameraných hodnôt štandardov a vzoriek odpočítajte priemernú hodnotu absorbcie od slepej vzorky. Dostanete korigovanú absorbciu;
- Zakreslite hodnoty korigovanej absorbcie pre každý štandard ako funkciu koncentrácie fruktózy v štandardoch;
- Vypočítajte lineárnu regresiu na základe údajov zo štandardnej krivky; koeficient determinácie ( $R^2$ ) by mal byť  $\geq 0,98$ ;
- Extrapolujte hodnoty vzoriek zo štandardnej krivky vykreslenej pomocou tejto rovnice:

$$\text{Koncentrácia fruktózy vzoriek } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{OD korigovaná vzorka} - \text{intercepce}}{\text{sklon}}$$

- Ak chcete získať celkové množstvo fruktózy (mg/ejakulát), vynásobte výsledok celkovým objemom vzorky spermy alebo semennej plazmy;
- Hodnota  $\geq 3,0$  mg fruktózy/ejakulát získaná pomocou testu Fructose Test sa považuje za normálnu hodnotu.

**Poznámka:** Na rýchlu analýzu údajov si z našej webovej stránky stiahnite tabuľku programu Excel a zadajte do nej údaje na výpočet výsledkov:



**OBMEDZENIA METÓDY**

Fructose Test slúži ako pomôcka pri diagnostike neplodnosti u mužov a jeho výsledky sa musia interpretovať – tak ako v prípade iných testov – spolu s klinickým nálezom a údajmi z anamnézy. Fructose Test umožňuje stanoviť hladinu fruktózy v rozmedzí od 0.5 do 5 mg/ml.

**VÝKONNOSTNÉ CHARAKTERISTIKY**

Opakovateľnosť a reprodukovateľnosť:  $CV_{\text{intra}} < 15\%$ ,  $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Rozsah merania: 0.5-5 mg/ml

Medzná hodnota: 3.0 mg fruktózy/ejakulát

**SKLADOVANIE/LIKVIDÁCIA**

- Fructose Test je stabilný 12 mesiacov od dátumu výroby (aj po otvorení).
- Výrobok nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie.
- Reagencie skladujte pri teplote od 2 °C do 8 °C.
- Uchovávajte mimo (slnečného) žiarenia.
- Vhodné na prepravu alebo krátkodobé vystavenie pri zvýšenej teplote (do 5 dní pri 25 °C).
- Nezmrazujte.
- Reagencie sa musia zlikvidovať v súlade s miestnymi predpismi na likvidáciu zdravotníckych pomôcok.
- Fľaša s reagentom č. 2 (HCl) môže vykazovať miernu zmenu farby na oranžovú alebo ružovú (kvapalina zostáva bezfarebná); výsledky testu tým nie sú ovplyvnené.

**VAROVANIA A BEZPEČNOSTNÉ OPATRENIA**

Reagencia č. 1 (roztok TCA): Spôsobuje vážne popáleniny. Veľmi toxický pre vodné organizmy, môže spôsobiť dlhodobé nepriaznivé účinky vo vodnom prostredí. Ak dôjde ku kontaktu s očami, okamžite ich vypláchnite väčším množstvom vody a vyhľadajte lekársku pomoc. V prípade nehody alebo ak sa necítite dobre vyhľadajte lekársku pomoc okamžite.

Reagencia č. 2 (32 % roztok HCl): Spôsobuje popáleniny. Dráždi dýchacie cesty. Ak dôjde ku kontaktu s očami, okamžite ich vypláchnite väčším množstvom vody a vyhľadajte lekársku pomoc. V prípade nehody alebo ak sa necítite dobre vyhľadajte lekársku pomoc okamžite. Do koncentrovanej HCl nikdy nepridávajte vodu.

Reagencia č. 3 (indol v metanole): Škodlivá po požití. Zabráňte kontaktu s pokožkou a očami. Vysoko horľavá látka. Toxická pri vdýchnutí a po požití. Pri používaní tejto reagencie pracujte vždy v digestore.

Reagencia č. 4 (NaOH): Spôsobuje popáleniny. Ak dôjde ku kontaktu s očami, okamžite ich vypláchnite väčším množstvom vody a vyhľadajte lekársku pomoc. V prípade nehody alebo ak sa necítite dobre vyhľadajte lekársku pomoc okamžite. Štandard fruktózy obsahuje 0.09 % Na-azidu.

Všetok ľudský organický materiál by sa mal považovať za potenciálne infekčný. So všetkými vzorkami zaobchádzajte, ako keby mohli prenášať HIV alebo hepatitídu. Pri manipulácii so vzorkami a reagentmi nosíte vždy ochranný odev (rukavice, laboratórnu vestu, ochranu očí/tváre).

V prípade akejkoľvek závažnej nehody (v zmysle vymedzenia tohto pojmu v nariadení (EÚ) č. 2017/746 o diagnostických zdravotníckych pomôckach in vitro) je potrebné takúto udalosť nahlásiť spoločnosti FertiPro NV a v relevantných prípadoch príslušnému orgánu v členskom štáte, v ktorom má používateľ alebo pacient bydlisko.

**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

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



FRUCTO

SLOVNÍK SYMBOLOV

Symbol vymedzený v norme ISO 15223			
	Katalógové číslo		Kód šarže
	Uchovávajte mimo slnečného žiarenia		Výrobca
	Prečítajte si návod na použitie		Dátum spotreby
	Diagnostika in vitro		Teplotný limit
Symbol vymedzený v nariadení 2017/746			
	Označenie CE oboznámeným orgánom 2797		
Symbol vymedzený v nariadení (ES) č. 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Závažné ohrozenie zdravia		GHS07 Ohrozenie zdravia
	GHS02 Horľavá kvapalina		GHS05: Žieravosť/dráždivosť pre kožu
	GHS06 Akútna toxicita		GHS09 Nebezpečnosť pre vodné prostredie