

Fructose Test

Kit de diagnostic permettant de mesurer la teneur en fructose dans le sperme humain ou le plasma séminal.

Référence du document : FP09 I29 R01 C.1

Mise à jour : 22/12/2022

Utilisation à des fins de diagnostic in vitro

Réactif à usage professionnel uniquement.

INFORMATIONS GENERALES

La sécrétion des vésicules séminales constitue la fraction principale de l'éjaculat. La concentration en fructose séminal peut être utilisée comme marqueur de la fonction des vésicules séminales. Une faible teneur en fructose dans le sperme est caractéristique d'une obstruction partielle ou totale du canal éjaculateur, d'une absence congénitale bilatérale du canal déférent, d'une éjaculation rétrograde partielle et d'un déficit en androgènes (OMS, 2021 ; ASRM, 2015).

Par conséquent, le Fructose Test peut être utilisé pour faciliter le diagnostic et la prise en charge de l'infertilité ou subfertilité masculine.

UTILISATION PRÉVUE

Le Fructose Test est un kit photométrique et diagnostique quantitatif non automatisé destiné à mesurer le fructose dans le sperme humain ou le plasma séminal (frais ou congelé).

Le Fructose Test peut aider à évaluer le diagnostic et la prise en charge de l'infertilité masculine, dans la mesure où le fructose présent dans le sperme reflète la fonction sécrétoire des vésicules séminales.

Il est possible de tester au maximum 44 échantillons avec les réactifs du Fructose Test lorsque les échantillons sont soumis à un essai en double au cours d'une même série de tests.

PRINCIPE DU TEST

Sous l'influence de la chaleur et d'un faible pH, le fructose réagit avec l'indole et forme un complexe coloré qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 450 à 492 nm et qui peut être mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre.

MATERIEL FOURNI AVEC LE TEST

- Réactif 1 - 50 ml de solution de TCA
- Réactif 2 - 25 ml de HCl concentré (32 %)
- Réactif 3 - 3 ml d'indole dans du méthanol
- Réactif 4 - 25 ml de NaOH (0,5 M)
- Solution étalon de fructose - 10 ml (5 mg/ml)

Un certificat d'analyse et les fiches de données de sécurité sont disponibles sur demande ou peuvent être téléchargés sur notre site Internet (www.fertipro.com).

MATERIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

Lecteur de plaques/photomètre (avec filtre de 450-492 nm), pipettes et embouts de pipette neufs, tubes à centrifuger, plaque à microtitrage, centrifugeuse (≥ 1000 g), petits tubes de réactifs ou tubes Eppendorf, bain-marie ou bloc chauffant, hotte de laboratoire.

METHODE

Scanner le code-barres (ou télécharger le lien sur www.fertipro.com) pour visionner la vidéo de démonstration.



Collecte et préparation de l'échantillon

Des récipients standard de collecte de sperme doivent être utilisés. Ils sont généralement fabriqués en polypropylène et soumis à des tests de survie/motilité des spermatozoïdes, lorsque l'échantillon de sperme est recueilli par masturbation. Des préservatifs en plastique non toxique pour les spermatozoïdes doivent être utilisés lorsqu'une collecte de sperme par masturbation n'est pas possible.

Effectuer le test, de préférence sur du plasma séminal (congelé/décongelé) plutôt que sur l'échantillon de sperme entier, tout particulièrement si l'échantillon n'est pas analysé immédiatement (c'est-à-dire pas dans les 3 heures suivant l'éjaculation) ou si le nombre de spermatozoïdes est élevé. On évite ainsi que les spermatozoïdes métabolisent le fructose, phénomène qui entraînerait une sous-estimation de la concentration de fructose. Congeler l'échantillon de plasma séminal ou de sperme (à -20 °C sans milieu de cryoconservation) s'il ne peut pas être testé le jour même.

Préparation du réactif

Ne pas utiliser le produit si le sceau des flacons est cassé ou si le kit est endommagé lors de la livraison.

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi. Les laisser reposer à température ambiante avant utilisation.

Préparation de l'échantillon

1. Laisser l'échantillon de sperme se liquéfier à température ambiante.
2. Mesurer le volume total de sperme (plasma) (p. ex. avec une seringue).

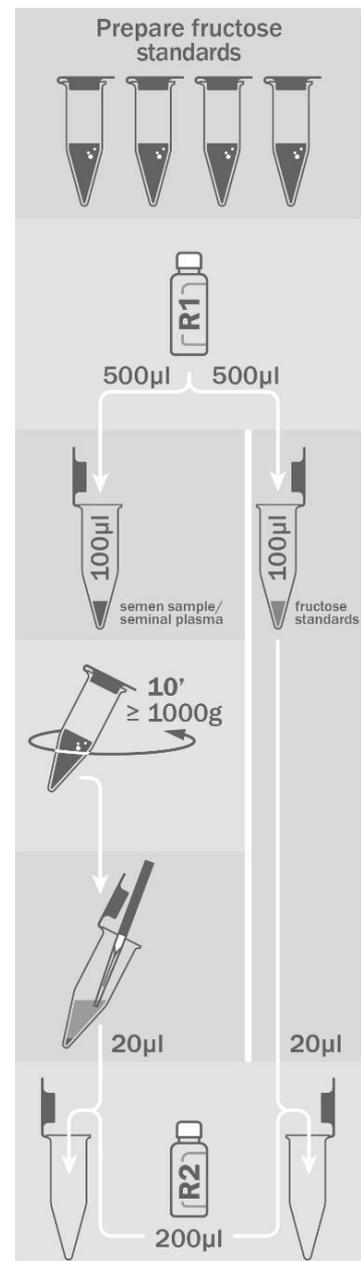
Méthode du Fructose Test

Recommandations :

1. Préparer la courbe standard et les échantillons en double exemplaire.
2. Préparer la courbe standard avec une plage de concentration de 0 à 5 mg/ml de fructose en utilisant une solution étalon de fructose (5 mg/ml) et de l'eau purifiée (p. ex. distillée) :

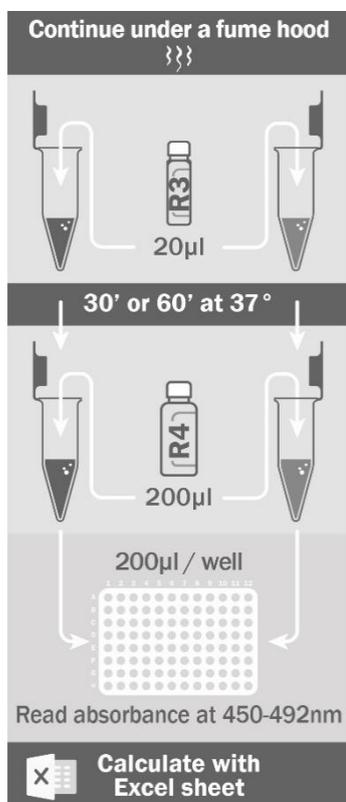
Solution étalon	Solution étalon de fructose	Eau
5 mg/ml	250 μ l	0 μ l
2,5 mg/ml	125 μ l	125 μ l
1 mg/ml	50 μ l	200 μ l
Blanc	-	250 μ l

Présentation graphique du protocole :



Clarification :

1. Pipeter 100 µL d'échantillon de sperme/plasma séminal et 100 µL de solutions étalon de fructose préparés à l'étape 2 dans des tubes à essai séparés (effectuer cette opération de préférence en double exemplaire);
2. Ajouter 500 µL de Réactif 1 (solution de TCA) aux échantillons et aux solutions étalon et mélanger ;
3. Centrifuger les échantillons 10 minutes à $\geq 1\ 000\ g$;
4. Pipeter soigneusement 20 µL de surnageant/solution étalon dans un tube à essai vide. Éviter de mettre en contact la pointe de la pipette et les précipités!
5. Ajouter 200 µL de Réactif 2 (HCl) dans chaque tube;



À partir de cette étape, travailler sous une hotte de laboratoire (le Réactif 3 est toxique par inhalation)

6. Ajouter 20 µL de Réactif 3 (indole) dans chaque tube et mélanger;
7. Fermer ou sceller les tubes et incuber 30 minutes à 37 °C dans un bain-marie ou un bloc chauffant approprié (recommandé), ou 60 minutes à 37 °C dans un incubateur sec;
8. Ajouter 200 µL de Réactif 4 pour arrêter la réaction de coloration;
9. Pipeter 200 µL d'échantillon/de solution étalon dans un puits vide de la plaque de microtitrage et lire les résultats à 450-492 nm dans un lecteur de plaques/photomètre à plaques;
10. Une fois chaque test terminé, jeter tous les réactifs et matériaux utilisés.

INTERPRETATION

1. Faire la moyenne des deux lectures pour chaque solution étalon et échantillon;
2. Soustraire la valeur d'absorbance moyenne du blanc de toutes les lectures de solution étalon et d'échantillon. On obtient ainsi l'absorbance corrigée;
3. Tracer les valeurs d'absorbance corrigées pour chaque solution étalon en fonction de la concentration de fructose dans les solutions étalon;
4. Calculer la régression linéaire en fonction des données de la courbe standard; le coefficient de détermination (R^2) doit être $\geq 0,98$;
5. Extrapoler les lectures des échantillons à partir de la courbe standard tracée à l'aide de l'équation suivante:

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

6. Pour obtenir la quantité totale de fructose (mg/éjaculat), multiplier le résultat par le volume total de l'échantillon de sperme ou de plasma séminal;
7. Une valeur $\geq 3,0$ mg de fructose/éjaculat obtenue avec le Fructose Test est considérée comme une valeur normale.

Remarque: pour analyser rapidement les données, télécharger la feuille de calcul Excel depuis notre site Web et renseigner les données pour pouvoir calculer les résultats :



LIMITES DE LA METHODE

Le Fructose Test permet de faciliter le diagnostic de l'infertilité masculine. Comme pour les autres tests biologiques, les résultats doivent être interprétés en tenant compte des données cliniques et d'anamnèse disponibles. Le Fructose Test permet de déterminer des niveaux de fructose compris entre 0,5 et 5 mg/ml.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Répétabilité et reproductibilité: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Plage de mesure: 0,5-5 mg/ml

Limite: 3,0 mg de fructose/éjaculat

STOCKAGE/ELIMINATION

- Le Fructose Test est stable pendant 12 mois à compter de la date de fabrication (même après ouverture).
- Ne pas utiliser le produit après la date de péremption.
- Conserver les réactifs entre 2 et 8 °C.
- Tenir à l'écart de la lumière du soleil.
- Convient au transport ou à une exposition de courte durée à des températures élevées (jusqu'à 5 jours à 25 °C)
- Ne pas congeler
- Les réactifs doivent être éliminés conformément aux réglementations locales relatives à l'élimination des dispositifs médicaux.
- Le flacon contenant le Réactif 2 (HCl) peut légèrement changer de couleur et devenir orange ou rose (le liquide reste incolore), ceci n'affecte pas les résultats du test.

MISES EN GARDE ET PRECAUTIONS

Réactif 1 (solution de TCA): Provoque de graves brûlures. Très toxique pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets nocifs à long terme pour le milieu 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 de 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 du HCl concentré.

Réactif 3 (indole dans le méthanol) : Nocif en cas d'ingestion. Éviter le contact avec la peau et les yeux. Extrêmement inflammable. Toxique par inhalation et en cas d'ingestion. **Toujours travailler dans une hotte de laboratoire en cas d'utilisation de 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.

La solution étalon de fructose contient 0,09 % d'azote de sodium.

Toute matière organique humaine doit être considérée comme potentiellement infectieuse. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient susceptibles de transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection lors de la manipulation des échantillons et des réactifs (gants, blouse de laboratoire, protection pour les yeux ou le visage).

Tout incident grave (tel que défini dans le Règlement européen 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro) doit être signalé à FertiPro NV et, le cas échéant, à l'autorité compétente de l'État membre de l'UE dans lequel l'utilisateur et/ou le patient sont établis.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

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

ASSISTANCE TECHNIQUE



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



FRUCTO



GLOSSAIRE DES SYMBOLES

Symboles tels que définis dans la norme ISO 15223			
	Référence catalogue		Numéro de lot
	Tenir à l'écart de la lumière du soleil		Fabricant
	Consulter les instructions d'utilisation		Date de péremption
	Diagnostics in vitro		Limite de température
Symbole tel que défini dans la norme IVDR 2017/746			
	Marquage CE délivré par l'organisme notifié 2797		
Symbole tel que défini dans le règlement (CE) n° 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Risque grave pour la santé humaine		GHS07 Danger pour la santé humaine
	GHS02 Liquide inflammable		GHS05 Corrosion/irritation de la peau
	GHS06 Toxicité aiguë		GHS09 Dangereux pour le milieu aquatique