

Fructose Test

Διαγνωστικό kit για τη μέτρηση της φρουκτόζης στο ανθρώπινο σπέρμα ή στο σπερματικό πλάσμα

Κωδικός αναφοράς εγγράφου: FP09 I29 R01 C.1
Ενημέρωση: 22/12/2022

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Αντιδραστήριο μόνο για επαγγελματική χρήση.

ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Η έκκριση των σπερματοδόχων κύστεων αποτελεί το κύριο κλάσμα της εκσπερμάτισης. Η συγκέντρωση της φρουκτόζης στο σπέρμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως δείκτης της λειτουργίας των σπερματοδόχων κύστεων. Η χαμηλή συγκέντρωση φρουκτόζης στο σπέρμα είναι χαρακτηριστικό μερικής ή πλήρους απόφραξης του σπερματικού πόρου, αμφίπλευρης συγγενούς απουσίας του σπερματικού πόρου, μερικής παλίνδρομης εκσπερμάτισης και έλλειψης ανδρογόνων (ΠΟΥ, 2021· ASRM, 2015).

Ως εκ τούτου, το Fructose Test μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως βοήθημα στη διάγνωση και τη διαχείριση της ανδρικής στειρότητας/υπογονιμότητας.

ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το Fructose Test είναι ένα ποσοτικό, μη αυτοματοποιημένο, φωτομετρικό και διαγνωστικό kit για τη μέτρηση της φρουκτόζης στο ανθρώπινο σπέρμα ή στο σπερματικό πλάσμα (νωπό ή κατεψυγμένο).

Το Fructose Test μπορεί να βοηθήσει στην αξιολόγηση της διάγνωσης και της διαχείρισης της ανδρικής στειρότητας καθώς η φρουκτόζη στο σπέρμα αντανακλά την εκκριτική λειτουργία των σπερματοδόχων κύστεων.

Ο μέγιστος αριθμός δειγμάτων που μπορούν να εξεταστούν με τα αντιδραστήρια στο Fructose Test είναι 44 όταν τα δείγματα εξετάζονται εις διπλούν σε μία ανάλυση.

ΑΡΧΗ ΕΞΕΤΑΣΗΣ

Υπό την επίδραση της θερμότητας και του χαμηλού pH, η φρουκτόζη αντιδρά με την ινδόλη και σχηματίζει ένα έγχρωμο σύμπλεγμα, το οποίο απορροφά το φως σε μήκος κύματος 450-492 nm που μπορεί να μετρηθεί με φασματοφωτόμετρο.

ΥΛΙΚΟ ΠΟΥ ΠΕΡΙΛΑΜΒΑΝΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΕΞΕΤΑΣΗ

- Αντιδραστήριο Reagent 1 - 50 ml διαλύματος TCA
- Αντιδραστήριο Reagent 2 - 25 ml πυκνό HCl (32%)
- Αντιδραστήριο Reagent 3 - 3 ml ινδόλιο σε μεθανόλη
- Αντιδραστήριο Reagent 4 - 25 ml NaOH (0,5M)
- Fructose Standard (πρότυπο φρουκτόζης) - 10ml (5mg/ml)

Το πιστοποιητικό ανάλυσης και τα ΔΔΑΥ είναι διαθέσιμα κατόπιν αιτήματος ή μπορούν να μεταφορτωθούν από τον ιστότοπο (www.fertipro.com).

ΥΛΙΚΑ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΑΛΛΑ ΔΕΝ ΠΑΡΕΧΟΝΤΑΙ

Συσκευή ανάγνωσης πλακών / φωτόμετρο (με φίλτρο 450-492 nm), πιπέτες και αχρησιμοποίητα ρύγχη πιπετών, σωληνάρια φυγοκέντρου, πλάκα μικροπιλοδότησης, φυγόκεντρος ($\geq 1000g$), μικρά σωληνάρια για αντιδραστήρια ή σωληνάρια Eppendorf, υδατόλουτρο ή θερμαινόμενη πλάκα, απαγωγός.

ΜΕΘΟΔΟΣ

Σαρώστε τον γραμμωτό κώδικα (ή μεταφορτώστε το βίντεο μέσω του συνδέσμου στο www.fertipro.com) για να παρακολουθήσετε το βίντεο επίδειξης



Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται τυπικά δοχεία συλλογής σπέρματος, συνήθως από πολυπροπυλένιο και ελεγμένα ως προς την επιβίωση/κινητικότητα του σπέρματος, όταν το σπέρμα συλλέγεται με αυνανισμό. Μη τοξικά για το σπέρμα πλαστικά προφυλακτικά θα πρέπει να χρησιμοποιούνται όταν δεν είναι δυνατή η συλλογή σπέρματος με αυνανισμό.

Διενεργήστε την εξέταση κατά προτίμηση σε (κατεψυγμένο/αποψυγμένο) σπερματικό πλάσμα αντί για δείγμα ολικού σπέρματος, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όπου το δείγμα δεν αναλύεται αμέσως (δηλαδή όχι εντός 3 ωρών από την εκσπερμάτιση) ή όταν ο αριθμός των σπερματοζωαρίων είναι υψηλός. Αυτό για να αποφεύγεται το φαινόμενο του μεταβολισμού της φρουκτόζης από τα σπερματοζωάρια που οδηγεί σε υποεκτίμηση της συγκέντρωσης φρουκτόζης. Καταψύξτε το σπερματικό πλάσμα ή δείγμα σπέρματος (στους $-20^{\circ}C$ χωρίς μέσο κρυσθνήρησης) όταν δεν μπορεί να εξεταστεί την ίδια εργάσιμη ημέρα.

Προετοιμασία αντιδραστηρίων

Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν εάν η σφράγιση των φιαλών είναι ανοιχτή ή είναι ελαττωματική κατά την παράδοση του kit.

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση. Αφήστε τα να προσαρμοστούν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση.

Προετοιμασία δειγμάτων

1. Αφήστε το δείγμα σπέρματος να υγροποιηθεί σε θερμοκρασία δωματίου
2. Μετρήστε τον ολικό όγκο σπέρματος (πλάσμα) (π.χ. με σύριγγα)

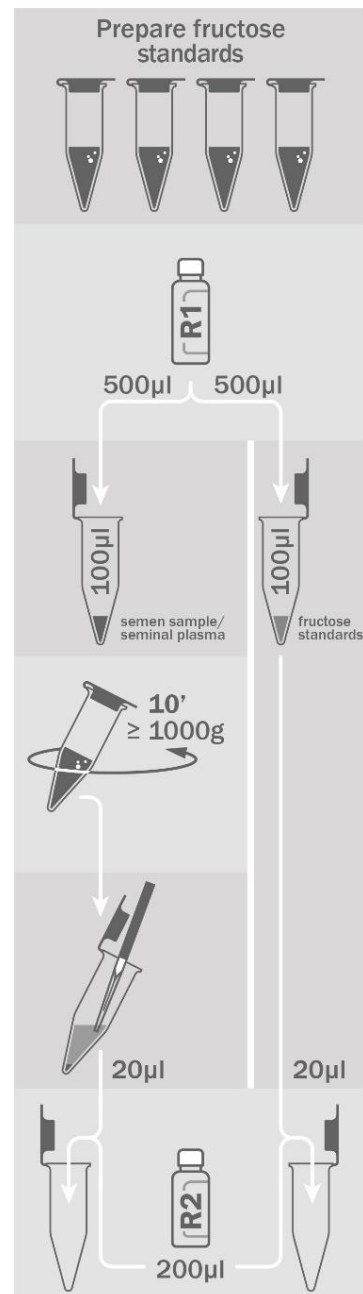
Μέθοδος Fructose Test

Συστάσεις:

1. Προετοιμάστε την πρότυπη καμπύλη και τα δείγματα εις διπλούν.
2. Προετοιμάστε την πρότυπη καμπύλη με εύρος συγκεντρώσεων από 0 έως 5 mg/ml φρουκτόζης χρησιμοποιώντας το πρότυπο φρουκτόζης (5 mg/ml) και καθαρισμένο (π.χ. αποσταγμένο) νερό:

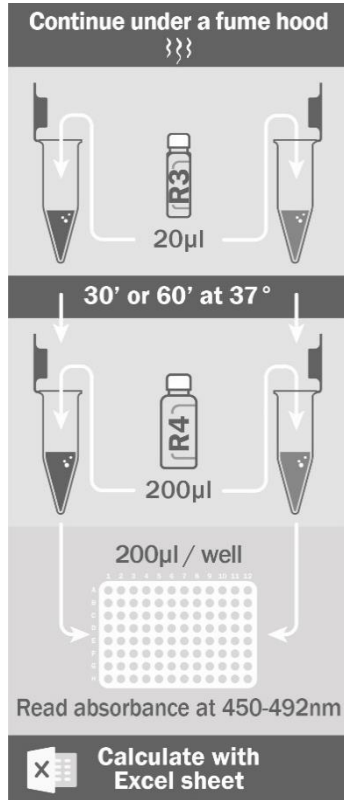
Πρότυπο	Πρότυπο φρουκτόζης	Νερό
5 mg/ml	250 μ l	0 μ l
2,5 mg/ml	125 μ l	125 μ l
1 mg/ml	50 μ l	200 μ l
Κενό	-	250 μ l

Γραφική παρουσίαση του πρωτοκόλλου:



Διευκρίνιση:

1. Αναρροφήστε με πιπέτα 100 μL δείγματος σπέρματος/σπερματικού πλάσματος και 100 μl των προτύπων φρουκτόζης που παρασκευάστηκαν στο βήμα 2 σε ξεχωριστά σωληνάκια (κατά προτίμηση εις διπλούν).
2. Προσθέστε 500μL Reagent 1 (διάλυμα TCA) στα δείγματα και τα πρότυπα και αναμείξτε.
3. Φυγοκεντρήστε τα δείγματα για 10 λεπτά σε $\geq 1000g$.
4. Αναρροφήστε προσεκτικά με πιπέτα 20μL από το υπερκείμενο/πρότυπο σε ένα κενό σωληνάριο. Αποφύγετε την επαφή του ρύγχους της πιπέτας με τα ιζήματα!
5. Προσθέστε 200μL Reagent 2 (HCl) σε κάθε σωληνάριο.



Από αυτό το βήμα εργαστείτε σε απαγωγό (το Reagent 3 είναι τοξικό όταν εισπνέεται)

6. Προσθέστε 20 μL Reagent 3 (ινδόλιο) σε κάθε σωληνάριο και αναμείξτε.
7. Κλείστε ή σφραγίστε τα σωληνάκια και επωάστε για 30 λεπτά στους 37°C σε υδατόλουτρο ή θερμαινόμενη πλάκα με τις κατάλληλες υποδοχές (συνιστάται), ή για 60 λεπτά στους 37°C σε ξηρό επωαστικό κλίβανο.
8. Προσθέστε 200μL Reagent 4 για να διακόψετε τη χρωματική αντίδραση.
9. Αναρροφήστε με πιπέτα 200 μL δείγματος / προτύπου σε κενό βοθρίο της πλάκας μικροπιλοδότησης και διαβάστε τα αποτελέσματα στα 450-492nm σε συσκευή ανάγνωσης πλακών/φωτόμετρο.
10. Μετά από κάθε μεμονωμένη εξέταση, απορρίψτε όλα τα χρησιμοποιημένα αντιδραστήρια και υλικά.

ΕΡΜΗΝΕΙΑ

1. Υπολογίστε τον μέσο όρο της διπλής ένδειξης για κάθε πρότυπο και δείγμα.
2. Αφαιρέστε τη μέση τιμή απορρόφησης του τυφλού από όλες τις ενδείξεις προτύπων και δειγμάτων. Αυτή είναι η διορθωμένη απορρόφηση.
3. Σχεδιάστε τις διορθωμένες τιμές απορρόφησης για κάθε πρότυπο ως συνάρτηση της συγκέντρωσης φρουκτόζης των προτύπων.
4. Υπολογίστε τη γραμμική παλινδρόμηση με βάση τα δεδομένα της πρότυπης καμπύλης σας. Ο συντελεστής προσδιορισμού (R^2) θα πρέπει να είναι $\geq 0,98$
5. Προεκτείνετε τις μετρήσεις του δείγματος από την πρότυπη καμπύλη που σχεδιάστηκε χρησιμοποιώντας την ακόλουθη εξίσωση:

$$\text{Συγκέντρωση φρουκτόζης δειγμάτων} \left(\frac{mg}{ml} \right) = \frac{OD \text{ δείγμα}_{\text{διορθώθηκε}} - \text{αναχαίτιζω}}{\text{κλίση}}$$

6. Για τη λήψη της ολικής ποσότητας φρουκτόζης (mg/εκσπερμάτιση), πολλαπλασιάστε το αποτέλεσμα με τον ολικό όγκο του δείγματος σπέρματος ή σπερματικού πλάσματος.
7. Μια τιμή $\geq 3,0$ mg φρουκτόζης / εκσπερμάτιση που λαμβάνεται με το Fructose Test θεωρείται φυσιολογική τιμή.

Σημείωση: Για γρήγορη ανάλυση δεδομένων, μεταφορτώστε το φύλλο υπολογισμού του Excel από τον ιστότοπό μας και εισαγάγετε δεδομένα στο φύλλο για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων:



ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Fructose Test αποτελεί βοήθημα στη διάγνωση της ανδρικής στειρότητας και, όπως και για άλλες βιολογικές εξετάσεις, η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει να γίνεται στο πλαίσιο κλινικών ευρημάτων και δεδομένων λήψης ιστορικού. Το Fructose Test μπορεί να προσδιορίσει επίπεδα φρουκτόζης μεταξύ 0,5-5 mg/ml.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ

Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Εύρος μέτρησης: 0,5-5 mg/ml

Όριο αποκοπή: 3,0 mg φρουκτόζης / εκσπερμάτιση

ΦΥΛΑΞΗ/ΑΠΟΡΡΙΨΗ

- Το Fructose Test είναι σταθερό για 12 μήνες από την ημερομηνία παραγωγής (ακόμη και μετά το άνοιγμα).
- Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν μετά την ημερομηνία λήξης.
- Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια μεταξύ 2°C και 8°C.
- Να διατηρούνται μακριά από το (ηλιακό) φως.
- Κατάλληλο για μεταφορά ή βραχυπρόθεσμη φύλαξη σε υψηλές θερμοκρασίες (έως και 5 ημέρες στους 25°C)
- Να μην καταψύχεται
- Τα αντιδραστήρια πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τους τοπικούς κανονισμούς για την απόρριψη των ιατροτεχνολογικών προϊόντων.

Η φιάλη του Reagent 2 (HCl) μπορεί να εμφανίσει μια ήπια χρωματική μεταβολή προς πορτοκαλί ή ροζ (το υγρό παραμένει άχρωμο), αυτό δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Reagent 1 (διάλυμα TCA): Προκαλεί σοβαρά εγκαύματα. Πολύ τοξικό σε υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική βοήθεια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή εάν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε ιατρική βοήθεια αμέσως.

Reagent 2 (διάλυμα 32% HCl): Προκαλεί εγκαύματα. Ερεθιστικό για το αναπνευστικό σύστημα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική βοήθεια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή εάν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε ιατρική βοήθεια αμέσως. Ποτέ μην προσθέτετε νερό σε πυκνό HCl.

Reagent 3 (ινδόλιο σε μεθανόλη): Επιβλαβές σε περίπτωση κατάποσης. Αποφύγετε την επαφή με το δέρμα και τα μάτια. Εξαιρετικά εύφλεκτο. Τοξικό μετά από εισπνοή και σε περίπτωση κατάποσης. **Να εργάζεστε πάντα κάτω από απαγωγό όταν χρησιμοποιείτε αυτό το αντιδραστήριο.**

Reagent 4 (NaOH): Προκαλεί εγκαύματα. Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεπλύνετε αμέσως με άφθονο νερό και ζητήστε ιατρική βοήθεια. Σε περίπτωση ατυχήματος ή εάν δεν αισθάνεστε καλά, ζητήστε ιατρική βοήθεια αμέσως.

Το πρότυπο φρουκτόζης περιέχει 0,09% αζωτιδίου νατρίου

Κάθε ανθρώπινο, οργανικό υλικό θα πρέπει να θεωρείται δυνητικά λοιμώδες. Να χειρίζεστε όλα τα δείγματα ως ικανά να μεταδώσουν HIV ή ηπατίτιδα. Φοράτε πάντα προστατευτικό ρουχισμό κατά τον χειρισμό δειγμάτων και αντιδραστήριου (γάντια, εργαστηριακή ποδιά, προστασία ματιών/προσώπου).

Κάθε σοβαρό περιστατικό (όπως ορίζεται στον ευρωπαϊκό κανονισμό περί των in vitro διαγνωστικών ιατροτεχνολογικών προϊόντων 2017/746) θα πρέπει να αναφέρεται στη FertPro NV και, κατά περίπτωση, στην αρμόδια αρχή του Ευρωπαϊκού κράτους μέλους της ΕΕ στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

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 - Βέλγιο
E-mail: info@fertipro.com
URL: https://www.fertipro.com



REF FRUCTO

ΓΛΩΣΣΑΡΙΟ ΣΥΜΒΟΛΩΝ

Σύμβολα όπως ορίζονται στο ISO 15223			
	Αριθμός καταλόγου		Κωδικός παρτίδας
	Διατηρείτε το προϊόν μακριά από το (ηλιακό) φως		Παρασκευαστής
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		Ημερομηνία λήξης
	Προϊόντα διάγνωσης in vitro		Όριο θερμοκρασίας
Σύμβολο όπως ορίζεται στην ΟΙΠ 2017/746			
	Σήμανση CE από τον Κοινοποιημένο Οργανισμό 2797		
Σύμβολο όπως ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Σοβαρός κίνδυνος για την υγεία		GHS07 Κίνδυνος για την υγεία
	GHS02 Εύφλεκτο υγρό		GHS05 Διάβρωση/ερεθισμός του δέρματος
	GHS06 Οξεία τοξικότητα		GHS09 Επικίνδυνο για το υδάτινο περιβάλλον