

Fructose Test

Diagnostische kit voor het meten van fructose in humaan sperma of seminaal plasma

Document referentie: FP09 I29 R01 C.1
Editie: 22/12/2022

Enkel voor *in vitro* diagnostisch gebruik
Reagens enkel voor professioneel gebruik

ALGEMENE INFORMATIE

De afscheiding van de zaadblaasjes vormt de hoofdfractie van het ejaculaat. De seminale fructoseconcentratie kan als marker worden gebruikt voor de functie van de zaadblaasjes. Weinig fructose in sperma is kenmerkend voor gedeeltelijke of volledige obstructie van de ejaculatiebuis, bilaterale aangeboren afwezigheid van de zaadleider, gedeeltelijke retrograde ejaculatie en androgeen deficiëntie (WHO, 2021; ASRM, 2015).

Vandaar dat de Fructose Test kan worden gebruikt als hulpmiddel bij de diagnose en behandeling van mannelijke onvruchtbaarheid/subfertiliteit.

BEOOGD GEBRUIK

De Fructose Test is een kwantitatieve, niet-geautomatiseerde, fotometrische en diagnostische kit voor het meten van fructose in humaan sperma of seminaal plasma (vers of bevroren).

De Fructose Test kan helpen bij de diagnose en behandeling van mannelijke onvruchtbaarheid, aangezien fructose in sperma de afscheidingsfunctie van de zaadblaasjes weerspiegelt.

Er kunnen maximaal 44 stalen worden getest met de reagentia van de Fructose Test wanneer de stalen in tweevoud worden getest in één testrun.

PRINCIPE VAN DE TEST

Onder invloed van warmte en lage pH reageert fructose met indool om een gekleurd complex te vormen. Dit complex absorbeert licht bij een golflengte van 450-492nm en kan worden gemeten met een spectrofotometer.

MATERIALEN INBEGREPEN BIJ DE TEST

- Reagens 1 - 50ml TCA oplossing
- Reagens 2 - 25ml geconcentreerde HCl (32%)
- Reagens 3 - 3ml indool in methanol
- Reagens 4 - 25ml NaOH (0.5M)
- Fructose Standaard - 10ml (5mg/ml)

Een certificaat van analyse en MSDS zijn op verzoek verkrijgbaar of kunnen worden gedownload van de website (www.fertipro.com).

BENODIGD MATERIAAL, NIET INBEGREPEN

Plaatlezer/fotometer (met 450-492nm filter), pipetten en verse pipetpunten, centrifugebuisjes, microtiterplaat, centrifuge ($\geq 1000g$), kleine reagensbuisjes of Eppendorfbuisjes, waterbad of hitteblok, afzuigkast.

METHODE

Scan de barcode (of download de link op www.fertipro.com) om de demonstratievideo te bekijken.



Verzameling en voorbereiding van stalen

Wanneer het sperma door masturbatie wordt verkregen, moeten standaard spermacontainers worden gebruikt, meestal vervaardigd uit polypropyleen, die getest zijn op de overleving/bewegelijkheid van het sperma. Wanneer de afname van sperma door masturbatie niet mogelijk is, moeten niet-sequentoxische plastic condoms worden gebruikt.

Voer de test bij voorkeur uit op (bevroren/ontdooit) seminaal plasma in plaats van op het gehele spermastaal, vooral wanneer het staal niet onmiddellijk wordt geanalyseerd (d.w.z. niet binnen 3 uur na de ejaculatie) of wanneer het aantal zaadcellen hoog is. Dit om te voorkomen dat spermatozoa fructose metaboliseren, wat leidt tot een onderschatting van de fructoseconcentratie. Vries het seminaal plasma of spermastaal in (bij $-20^{\circ}C$ zonder cryopreservatiemedium) wanneer het niet op dezelfde werkdag kan worden getest.

Vorbereiding van het reagens

Gebruik het product niet als de verzegeling van de flessen geopend of defect is wanneer de kit wordt geleverd.

Alle reagentia zijn klaar voor gebruik. Laat ze voor gebruik op kamertemperatuur komen.

Vorbereiding van de stalen

1. Laat het spermastaal vloeibaar worden bij kamertemperatuur.
2. Meet het totale volume sperma (plasma) (bv. met een injectiespuit).

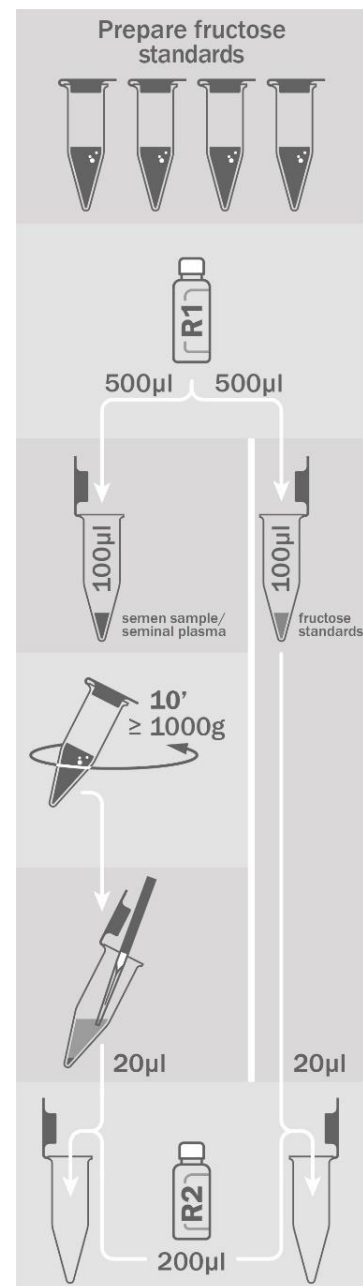
Methode Fructose Test

Aanbevelingen:

1. Bereid de standaardcurve en de stalen in tweevoud.
2. Bereid een standaardcurve met een concentratiebereik van 0 tot 5mg/ml fructose met behulp van de Fructose Standaard (5mg/ml) en gezuiverd (bv. gedestilleerd) water:

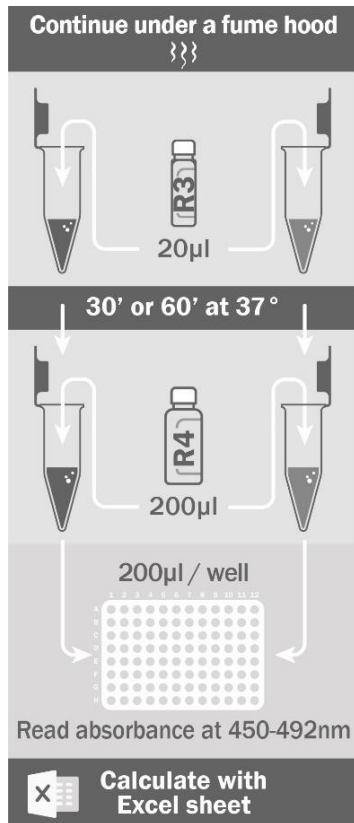
Standaard	Fructose Standaard	Water
5mg/ml	250 μ l	0 μ l
2.5mg/ml	125 μ l	125 μ l
1mg/ml	50 μ l	200 μ l
Blanco	-	250 μ l

Grafische presentatie van het protocol:



Verduidelijking:

1. Pipetteer 100µl van het spermastaal/seminaal plasma en 100µl van de in stap 2 bereide fructosestandaarden in afzonderlijke reageerbuisjes (doe dit bij voorkeur in duplo);
2. Voeg 500µl van Reagens 1 (TCA oplossing) toe aan de stalen en standaarden en meng;
3. Centrifugeer de stalen gedurende 10 minuten bij $\geq 1000g$;
4. Pipetteer voorzichtig 20µl supernatans/standaard in een lege reageerbuis. Vermijd contact van de pipetpunt met het precipitaat!
5. Voeg 200µl Reagens 2 (HCl) toe aan elk buisje;



Werk vanaf deze stap in een afzuigkast (Reagens 3 is toxisch bij inademing)

6. Voeg 20µl van Reagens 3 (indool) toe aan elk buisje en meng;
7. Sluit of verzegel de buisjes en incubeer gedurende 30 minuten bij 37°C in een waterbad of een gepaste hitteblok (aanbevolen), of gedurende 60 minuten bij 37°C in een droge incubator;
8. Voeg 200µl van Reagens 4 toe om de kleurreactie te stoppen;
9. Pipeteer 200µl van het staal/standaard in een leeg welltje van een microtiterplaat en lees de resultaten af bij 450-492nm op een plaatlezer/fotometer.
10. Gooi na elke afzonderlijke test alle gebruikte reagentia en materialen weg.

INTERPRETATIE

1. Neem het gemiddelde van in duplo afgelezen resultaten voor elke standaard en elk staal;
2. Trek de gemiddelde absorptiewaarden van de blanco af van alle standaard- en staalmetingen. Dit is de gecorrigeerde absorptie.
3. Plot de gecorrigeerde absorptiewaarden voor elke standaard als functie van de fructoseconcentratie van de standaarden;
4. Bereken de lineaire regressie op basis van de gegevens van de standaardcurve; de determinatiecoëfficiënt (R^2) moet ≥ 0.98 zijn;
5. Extrapoler de metingen van de stalen met behulp van de geplote standaardcurve door gebruik te maken van volgende vergelijking:

$$\text{Fructoseconcentratie van de stalen} \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{OD_{\text{staal}_{\text{gecorrigeerd}}} - \text{intercept}}{\text{helling}}$$

6. Vermenigvuldig het resultaat met het totale volume van het spermastaal of seminaal plasma om de totale hoeveelheid fructose (mg/ejaculaat) te verkrijgen.

7. Een waarde van ≥ 3.0 mg fructose/ejaculaat verkregen met de Fructose Test wordt beschouwd als normaal.

Opmerking: voor snelle gegevensanalyse kunt u het Excel-rekenblad van onze website downloaden en gegevens in het blad invoeren om de resultaten te berekenen:



BEPERKINGEN VAN DE METHODE

De Fructose Test is een hulpmiddel bij de diagnose van mannelijke onvruchtbaarheid en net als bij andere biologische testen moeten de resultaten worden geïnterpreteerd in het kader van klinische bevindingen en anamnese gegevens. De Fructose Test kan een fructosegehalte tussen de 0,5 en 5 mg/ml bepalen.

PRESTATIEKENMERKEN

Herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$
Meetbereik: 0,5-5 mg/ml
Cut-off: 3,0 mg fructose / ejaculate

BEWAARCONDITIES/AFVALINSTRUCTIES

- De Fructose Test is 12 maanden houdbaar na productiedatum (zelfs na opening).
- Gebruik het product niet na de vervaldatum.
- Bewaar reagentia tussen 2°C en 8°C.
- Verwijderd houden van (zon)licht.
- Geschikt voor transport of kortstondige blootstelling aan hoge temperaturen (tot 5 dagen bij 25°C).
- Niet invriezen.
- De reagentia moeten worden afgevoerd in overeenstemming met de plaatselijke voorschriften voor het afvoeren van medische hulpmiddelen.

Het flesje met Reagens 2 (HCl) kan een lichte kleurverandering naar oranje of roze vertonen (de vloeistof blijft kleurloos), dit heeft geen invloed op de testresultaten.

WAARSCHUWINGEN EN VOORZORGSMAATREGELEN

Reagens 1 (TCA oplossing): Veroorzaakt ernstige brandwonden. Zeer giftig voor in het water levende organismen; kan in het aquatisch milieu op lange termijn schadelijke effecten veroorzaken. Bij contact met ogen, onmiddellijk met veel water spoelen en een arts raadplegen. Bij een ongeval of indien u onwel wordt, onmiddellijk een arts raadplegen.

Reagens 2 (32% HCl oplossing): Veroorzaakt brandwonden. Irriterend voor de luchtwegen. Bij contact met de ogen, onmiddellijk met veel water spoelen en een arts raadplegen. Bij een ongeval of indien u onwel wordt, onmiddellijk een arts raadplegen. Voeg nooit water toe aan geconcentreerde HCl.

Reagens 3 (Indool in methanol): Schadelijk bij inslikken. Vermijd contact met huid en ogen. Licht ontvlambaar. Giftig bij inademing en inslikken. **Altijd onder een afzuigkast werken als dit reagens wordt gebruikt.**

Reagens 4 (NaOH): Veroorzaakt brandwonden. Bij contact met de ogen, onmiddellijk met veel water spoelen en een arts raadplegen. Bij een ongeval of indien u onwel wordt, onmiddellijk een arts raadplegen.

Fructose standaard bevat 0,09% Na-Azide

Al het humaan, organisch materiaal moet als potentieel besmettelijk worden beschouwd. Behandel alle stalen alsof ze HIV of hepatitis kunnen overdragen. Draag altijd beschermende kledij bij het hanteren van specimen en reagentia (handschoenen, labo- en oog-/gezichtsbescherming).

Elk ernstig incident (zoals gedefinieerd in de "Europese regelgeving voor in vitro diagnostiek 2017/746") dat zich heeft voorgedaan moet worden gerapporteerd aan FertiPro NV en, indien van toepassing, aan de competente autoriteit van het EU lidstaat waar de gebruiker en/of patiënt is gevestigd.

BIBLIOGRAFIE

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

SYMBOLEN WOORDENLIJST

Symbolen zoals gedefinieerd in ISO 15223			
	Catalogusnummer		Lotnummer
	Uit de buurt van (zon)licht houden		Fabrikant
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing		Vervaldatum
	In Vitro Diagnostiek		Temperatuurslimiet
Symbool zoals gedefinieerd in IVDR 2017/746			
	CE markering door Notified Body 2797		
Symbolen zoals gedefinieerd in Verordening (EC) Nr. 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Ernstig gevaar voor de gezondheid		GHS07 Gevaar voor de gezondheid
	GHS02 Ontvlambare vloeistof		GHS05 Huidcorrosie/-irritatie
	GHS06 Acute toxiciteit		GHS09 Gevaarlijk voor het aquatisch milieu