

Fructose Test

Kit diagnostico per la misurazione del fruttosio nel liquido seminale o nel plasma seminale umano

Riferimento del documento: FP09 I29 R01 C.1
Aggiornamento: 22/12/2022

Per uso diagnostico in vitro
Reagente esclusivamente per uso professionale.

INFORMAZIONI GENERALI

La secrezione delle vescicole seminali costituisce la frazione principale dell'eiaculato. La concentrazione di fruttosio seminale può essere utilizzata come indicatore della funzionalità vescicolare seminale. Il basso contenuto di fruttosio nel liquido seminale è caratteristico di condizioni quali ostruzione parziale o completa del dotto eiaculatorio, assenza congenita bilaterale del dotto deferente, eiaculazione retrograda parziale e carenza di androgeni (OMS, 2021; ASRM, 2015). Pertanto, Fructose Test può essere utilizzato come ausilio nella diagnosi e nella gestione della infertilità/subfertilità maschile.

USO PREVISTO

Fructose Test è un kit quantitativo, non automatizzato, fotometrico e diagnostico per la misurazione del fruttosio nel liquido seminale o nel plasma seminale umano (fresco o congelato).

Fructose Test può aiutare a valutare la diagnosi e la gestione dell'infertilità maschile in quanto il fruttosio nel liquido seminale rispecchia la funzionalità secretoria delle vescicole seminali.

Con i reagenti contenuti in Fructose Test è possibile testare un massimo di 44 campioni in duplicato in un'unica analisi.

PRINCIPIO DEL TEST

Sotto l'influenza del calore e del basso pH, il fruttosio reagisce con l'indolo e forma un complesso colorato che assorbe la luce a una lunghezza d'onda di 450-492 nm misurabile con uno spettrofotometro.

MATERIALE INCLUSO NEL TEST

- Reagente 1 - 50 ml di soluzione di TCA
- Reagente 2 - 25 ml di HCl concentrato (32%)
- Reagente 3 - 3 ml di indolo in metanolo
- Reagente 4 - 25 ml di NaOH (0,5 M)
- Standard di fruttosio - 10 ml (5 mg/ml)

Un certificato di analisi e la MSDS sono disponibili su richiesta o possono essere scaricati dal nostro sito web (www.fertipro.com).

MATERIALI NECESSARI MA NON FORNITI

Letto di piastre/fotometro (con filtro da 450-492 nm), pipette e puntali nuovi, provette da centrifuga, piastra per microtitolazione, centrifuga (≥ 1000 g), provette piccole per reagenti o provette Eppendorf, bagno d'acqua o blocco termico, cappa aspirante.

METODO

Scansionare il codice a barre (o scaricare il link su www.fertipro.com) per vedere il video dimostrativo.



Raccolta e preparazione dei campioni

Dovrebbero essere utilizzati contenitori standard per la raccolta del liquido seminale, tipicamente in polipropilene e testati per la sopravvivenza/motilità degli spermatozoi, quando il liquido seminale viene raccolto mediante masturbazione. I preservativi in plastica non tossica per gli spermatozoi devono essere usati quando non sia possibile la raccolta del liquido seminale mediante masturbazione.

Eseguire il test preferibilmente sul plasma seminale (congelato/scongelato) anziché sull'intero campione di liquido seminale, specialmente nei casi in cui il campione non viene analizzato immediatamente (cioè non entro 3 ore dall'eiaculazione) o quando il numero di spermatozoi è elevato. Questo per evitare che gli spermatozoi metabolizzino il fruttosio portando a una sottostima della concentrazione di fruttosio. Congelare il campione di plasma seminale o di liquido seminale (a -20 °C senza terreno di crioconservazione) qualora non possa essere sottoposto a test nello stesso giorno lavorativo.

Preparazione dei reagenti

Non utilizzare il prodotto se il sigillo dei flaconi è aperto o difettoso quando il kit viene consegnato.

Tutti i reagenti sono pronti per l'uso. Consentire che raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso.

Preparazione del campione

1. Lasciare liquefare il campione di liquido seminale a temperatura ambiente
2. Misurare il volume totale (ad es. con una siringa) del liquido seminale (plasma)

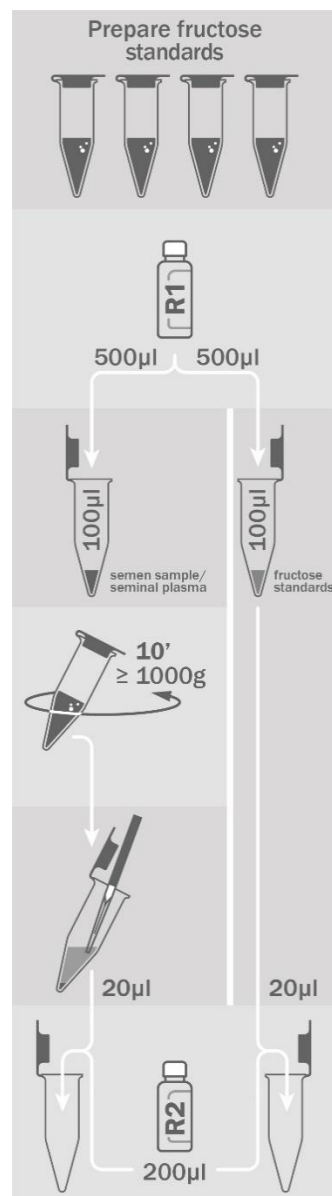
Metodo di Fructose Test

Raccomandazioni:

1. Preparare la curva standard e i campioni in duplicato.
2. Preparare una curva standard con un intervallo di concentrazione compreso tra 0 e 5 mg/ml di fruttosio utilizzando standard di fruttosio (5 mg/ml) e acqua purificata (ad es. distillata):

Standard	Standard di fruttosio	Acqua
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
Bianco	-	250 μ l

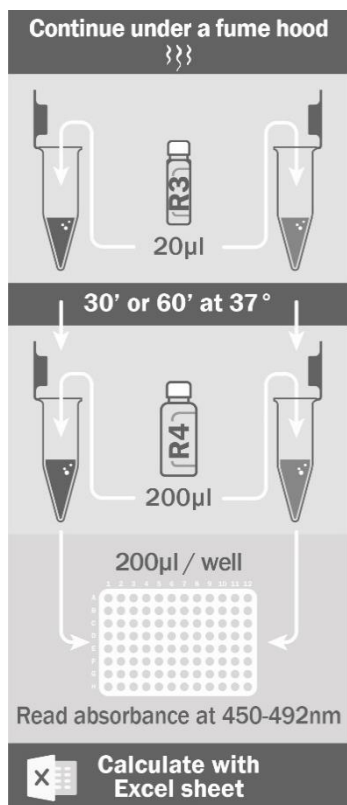
Presentazione grafica del protocollo:



Precisazione:

1. Pipettare 100 μ l di campione di liquido seminale/plasma seminale e 100 μ l di standard di fruttosio preparati al passaggio 2 in provette separate (eseguire questa operazione preferibilmente in duplicato);
2. Aggiungere 500 μ l di reagente 1 (soluzione di TCA) ai campioni e agli standard e mescolare;
3. Centrifugare i campioni per 10 minuti a ≥ 1000 g;

- Pipettare con cautela 20 µL di surnatante/standard in una provetta vuota. Evitare il contatto della punta della pipetta con i precipitati!
- Aggiungere 200 µL di reagente 2 (HCl) a ciascuna provetta.



A partire da questo passaggio, lavorare sotto cappa aspirante (il reagente 3 è tossico per inalazione)

- Aggiungere 20 µL di reagente 3 (indolo) a ciascuna provetta e mescolare;
- Chiudere o sigillare le provette e incubare per 30 minuti a 37 °C in un bagno d'acqua o in un apposito blocco termico (consigliato), oppure per 60 minuti a 37 °C in un incubatore a secco;
- Aggiungere 200 µL di reagente 4 per arrestare la reazione cromatica;
- Pipettare 200 µL di campione/standard in un pozzetto vuoto di una piastra per microtitolazione e leggere i risultati a 450-492 nm in un lettore di piastre/fotometro.
- Dopo ogni singolo test, scartare tutti i reagenti e i materiali utilizzati.

INTERPRETAZIONE

- Calcolare la media della lettura dei duplicati per ogni standard e campione;
- Sottrarre il valore medio di assorbanza del bianco da tutte le letture di standard e campioni. Questa è l'assorbanza corretta;
- Tracciare i valori di assorbanza corretti per ogni standard in funzione della concentrazione di fruttosio degli standard;
- Calcolare la regressione lineare in base ai dati della curva standard; il coefficiente di determinazione (R^2) dovrebbe essere $\geq 0,98$;
- Estrapolare le letture dei campioni dalla curva standard tracciata utilizzando la seguente equazione:

$$\text{Concentrazione di fruttosio nei campioni } \left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{OD campione}_{\text{corretto}} - \text{intercettazione}}{\text{pendenza}}$$

- Per ottenere il quantitativo totale di fruttosio (mg/eiaculato), moltiplicare il risultato per il volume totale del campione di liquido seminale o plasma seminale;
- Un valore $\geq 3,0$ mg di fruttosio/eiaculato ottenuto con Fructose Test è considerato un valore normale.

Nota: per una rapida analisi dei dati, scaricare il foglio di calcolo Excel dal nostro sito web e inserire i dati nel foglio per calcolare i risultati:



LIMITI DEL METODO

Fructose Test è di aiuto nella diagnosi dell'infertilità maschile e, come per altri test biologici, l'interpretazione dei risultati deve essere eseguita nell'ambito dei reperti clinici e dei dati anamnestici. Fructose Test può determinare livelli di fruttosio compresi tra 0,5 e 5 mg/ml.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Ripetibilità e riproducibilità: $CV_{\text{intra}} < 15\%$, $CV_{\text{inter}} < 15\%$

Intervallo di misurazione: 0,5-5 mg/ml

Cut-off: 3,0 mg di fruttosio/eiaculato

CONSERVAZIONE/SMALTIMENTO

- Fructose Test è stabile per 12 mesi dalla data di produzione (anche dopo l'apertura).
- Non utilizzare il prodotto dopo la data di scadenza.
- Conservare i reagenti tra 2 °C e 8 °C.
- Tenere lontano dalla luce (solare).
- Adatto al trasporto o all'esposizione a breve termine a temperature elevate (fino a 5 giorni a 25 °C)
- Non congelare
- I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle norme locali per lo smaltimento dei dispositivi medici.

Il flacone con il reagente 2 (HCl) può mostrare una lieve variazione cromatica sull'arancione o rosa (il liquido rimane incolore), che non influisce sui risultati del test.

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Reagente 1 (soluzione di TCA): provoca gravi ustioni. Altamente tossico per gli organismi acquatici, può provocare a lungo termine effetti negativi per l'ambiente acquatico. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico. In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico.

Reagente 2 (soluzione di HCl al 32%): provoca ustioni. Irritante per le vie respiratorie. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico. In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico. Non aggiungere mai acqua all'HCl concentrato.

Reagente 3 (indolo in metanolo): nocivo per ingestione. Evitare il contatto con la pelle e con gli occhi. Altamente infiammabile. Tossico per inalazione e per ingestione. **Lavorare sempre sotto cappa aspirante quando si utilizza questo reagente.**

Reagente 4 (NaOH): provoca ustioni. In caso di contatto con gli occhi, lavare immediatamente e abbondantemente con acqua e consultare il medico. In caso di incidente o di malessere consultare immediatamente il medico.

Lo standard di fruttosio contiene lo 0,09% di azoturo di sodio

Tutto il materiale organico umano deve essere considerato potenzialmente infettivo. Maneggiare tutti i campioni come se fossero in grado di trasmettere HIV o epatite. Indossare sempre indumenti protettivi quando si maneggiano campioni e reagenti (guanti, camice, protezione per occhi/viso).

Nel caso si verifici un incidente grave (ai sensi del "regolamento europeo 2017/746 relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*"), occorre segnalarlo a FertiPro NV e, se del caso, all'autorità competente dello Stato membro dell'UE in cui risiede l'utente e/o il paziente.

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
















SUPPORTO TECNICO

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



REF FRUCTO

GLOSSARIO DEI SIMBOLI

Simboli definiti in ISO 15223			
	Numero di catalogo		Codice del lotto
	Tenere lontano dalla luce (solare)		Produttore
	Consultare le istruzioni per l'uso		Data di scadenza
	Diagnostica in vitro		Limite di temperatura
Simbolo definito nel regolamento IVD 2017/746			
	Marchatura CE da parte dell'organismo notificato 2797		
Simbolo definito nel regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]			
	GHS08 Grave pericolo per la salute		GHS07 Pericolo per la salute
	GHS02 Liquido infiammabile		GHS05 Corrosione/irritazione cutanea
	GHS06 Tossicità acuta		GHS09 Pericoloso per l'ambiente acquatico