Citric Acid Test

Фотометрический тест для количественного определения содержания лимонной кислоты в семенной плазме человека

Документ №: FP09 I37 R01 A.7
Дата издания: 28.02.2017 г.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ НАБОР ТОЛЬКО ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Продукты секреции предстательной железы формируют около 1/3 семенной жидкости, в которой суспендированы сперматозоиды. Содержание лимонной кислоты в сперме дает достоверную оценку секреции предстательной железы (Comhaire, 1986). Имеются данные, что лимонная кислота может играть важную роль в поддержании осмотического равновесия спермы, что, в свою очередь, оказывает влияние на функционирование мембраны и на морфологию сперматозоидов.

Тест на определение содержания лимонной кислоты Citric Acid Test может способствовать постановке диагноза и ведению мужского бесплодия.

ПРИНЦИП ТЕСТА

Тест Citric Acid Test выполняется в два этапа:
1. Сперматозоиды и частицы удаляются путем обработки изопропанолом (вызывает преципитацию)
2. После центрифугирования в супернатант добавляется хлорид железа. Ионы железа Fe^{3+} и цитрат формируют комплекс, который окрашивает раствор в желтый цвет. Интенсивность окрашивания напрямую связана с количеством цитрата, и измеряется с помощью кюветного или планшетного фотометра.

МАТЕРИАЛЫ, ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- Реагент 1 – 20 мл раствора $FeCl_3$ (**легко вспенивается – не встряхивать!)**
- Реагент 2 – 10 мл изопропанола
- Реагент 3 – 2 мл стандарта лимонной кислоты (4 мг/мл)

Сертификат анализа и паспорт безопасности на набор доступны по запросу.

МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР

- Планшетный или кюветный фотометр (фильтр 405 нм)
- Дозаторы, наконечники
- Центрифужные пробирки
- Титровальный планшет
- Центрифуга (≥2500 g)
- Маленькие пробирки для реагентов или пробирки Эппендорфа

ВЫБОР ОБРАЗЦА ДЛЯ АНАЛИЗА

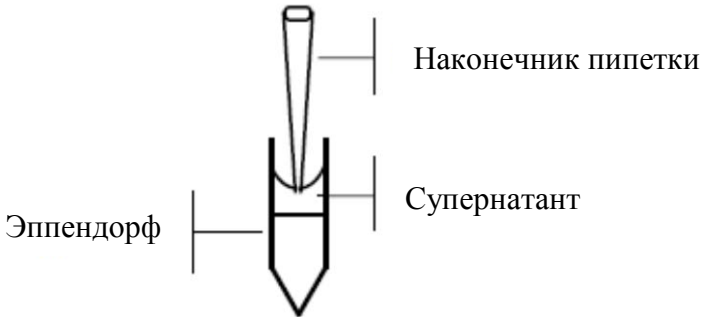
Тест рекомендуется проводить на семенной плазме (в т.ч. замороженной/размороженной), но не в цельной сперме. Это рекомендовано во избежание формирования избыточной преципитации (осаждения) во время анализа. Если анализ образца не может быть проведен в день забора, заморозьте семенную плазму.

МЕТОД

***Примечание**: тест рекомендуется проводить на семенной плазме. Для подготовки семенной плазмы применяйте стандартную методику, используемую в Вашей лаборатории, или используйте следующую методику:*
Поместите образец спермы в центрифужную пробирку и центрифугируйте в течение 15 минут при 3000 g. Аккуратно отберите супернатант и поместите в чистую пробирку.

1. Смешайте 100 мкл Реагента 2 и 100 мкл семенной жидкости или семенной плазмы, аккуратно перемешайте.
2. Приготовление стандарта: смешайте 100 мкл Реагента 3 (стандартного раствора) со 100 мкл Реагента 2.
3. Центрифугируйте пробы в течение 20 минут при 2500 g.
4. Отберите дозатором по 25 мкл супернатанта и поместите в пустые лунки планшета.

Примечание: отбирайте супернатант очень осторожно, чтобы не допустить забора осадка. В случае, если супернатант мутный (присутствуют взвешенные частицы), центрифугируйте образцы повторно при 2500 g в течение еще 10 минут.



5. Медленно добавьте по 200 мкл Реагента 1 в каждую из лунок. Перемешайте аккуратно избежание образования пузырьков воздуха.
6. Измерьте оптическую плотность (поглощение) в образце и в стандарте с помощью фотометра на длине волны 405 нм.

РАСЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученное значение оптической плотности (ОП) образца делится на значение ОП стандарта и умножается на концентрацию стандарта (4 мг/мл).

Концентрация лимонной кислоты (мг/мл) = ($ОП_{образца}$/ $ОП_{стандарта}$) x 4 мг/мл

Для вычисления общего содержания лимонной кислоты полученный результат умножают на общий объем семенной жидкости или семенной плазмы.
Нормальное значение содержания лимонной кислоты составляет 10 мг/эякулят и более (ВОЗ, 1992 г.).

Снижение содержания лимонной кислоты в эякуляте было выявлено у пациентов с простатитом и у пациентов с азооспермией (Comhaire, 1986). Низкие значения содержания лимонной кислоты в эякуляте сопутствуют урологическому диагнозу хронического простатита или гипогонадизма (Kanyo, 1975).

ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА

Коэффициент вариации в пределах одного анализа: 4 % (повторяемость)
Коэффициент вариации для серии анализов: 8 % (суммарная воспроизводимость)

ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ

Хранить реагенты при температуре 2-25 ºС в защищенном от света месте. Набор годен к использованию в течение 12 месяцев с даты производства. Набор можно

транспортировать или хранить в течение короткого периода при повышенных температурах (до 5 суток при 37 ºС).

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ

Реагент 1: токсичен при проглатывании. Вызывает раздражение кожи. Несет риск существенного повреждения глаз.
Реагенты 2/3: легко воспламенимы. Вызывают раздражение глаз. Пары могут вызвать сонливость или головокружение.
Все человеческие и органические образцы должны рассматриваться в качестве потенциально патогенных. Работайте со всеми образцами так, как если бы они являлись возможными переносчиками ВИЧ или гепатита. При обращении с образцами и реагентами всегда используйте защитную одежду (перчатки, халат, защитные очки/защитная маска).

РАСЧЕТ УСКОРЕНИЯ (G):

Центрифужное ускорение Вашей центрифуги можно рассчитать с помощью формулы:
$g = 1{,}118 \times r \times RPM^2$,
где r – радиус центрифуги (ротора) в мм,
RPM – число тысяч оборотов в минуту.
Например:
r = 100 мм, RPM = 3 тысячи оборотов в минуту
$g = 1{,}118 \times 100 \times 9 = 1006$

ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:

FertiPro N.V., Бельгия
www.fertipro.com

ЭКСКЛЮЗИВНЫЙ ДИСТРИБЬЮТОР В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ:

ООО «Селл Диагностик»
Адрес для почтовых отправлений: 220020 Минск, а/я 5

Тел.: +375 29 391 16 90
Факс: +375 17 395 88 09
E-mail: cell.diagnost@gmail.com

www.celldiagnostic.by

CE IVD

СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. F.H. Comhaire; Male Infertility. Clinical investigation, cause evaluation and treatment - 1st Edition; Chapman & Hall; 1986
2. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 3rd Edition, Cambridge Press, 1992
3. Kanyo A., Sas M., Citric Acid Contents in the Ejaculate, Significance of Its Determination in Andrological Diagnostics, International Urology and Nephrology, 1975, 7(1), pp.83-7