

# Fructose Test

Фотометрический тест для количественного определения содержания фруктозы в семенной плазме человека

---

Документ №: FP09 I29 R01 B.9

Дата издания: 08.05.2017 г.

СТАНДАРТ ФРУКТОЗЫ СОДЕРЖИТ 0,09% АЗИДА НАТРИЯ  
НАБОР ТОЛЬКО ДЛЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ.

## **ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

Тест Fructose Test предназначен для измерения количества фруктозы в сперме или семенной плазме человека. Содержание фруктозы в сперме отражает секреторную функцию семенных пузырьков

Тест на определение содержания фруктозы Fructose Test может способствовать постановке диагноза и ведению мужского бесплодия.

## **ПРИНЦИП ТЕСТА**

В присутствии HCl и при нагревании происходит реакция фруктозы с индолом, в результате которой образуется окрашенный комплекс, поглощающий на длинах волн 450-492 нм.

## **МАТЕРИАЛЫ, ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР**

- Реагент 1 – 50 мл раствора TCA (трихлоруксусной кислоты)
- Реагент 2 – 25 мл концентрированной HCl (соляной кислоты), 32 %
- Реагент 3 – 3 мл индола в метаноле
- Реагент 4 – 25 мл раствора NaOH (0,5 M)
- Стандарт фруктозы – 10 мл (5 мг/мл)

## **МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЁННЫЕ В НАБОР**

- Планшетный или кюветный фотометр (фильтр 450-492 нм)
- Дозаторы, наконечники
- Центрифужные пробирки
- Титровальный планшет
- Центрифуга (1500 g)
- Маленькие пробирки для реагентов или пробирки Эппендорфа
- водяная баня (*вместо бани может использоваться твердотельный нагреватель (напр., для ПЦР)*) или суховоздушный инкубатор

## **ВЫБОР ОБРАЗЦА ДЛЯ АНАЛИЗА**

Тест рекомендуется проводить на семенной плазме (в т.ч. замороженной/размороженной), но не в цельной сперме, особенно в случаях, когда незамедлительный анализ образца (в течение 3 часов после сбора образца) невозможен. Это рекомендовано во избежание метаболизирования фруктозы сперматозоидами, что может привести к заниженному результату определения концентрации фруктозы.

## **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 г. Аккуратно отберите супернатант и поместите в чистую пробирку.

1. Выдержать образец спермы при комнатной температуре до его сжижения.
2. Измерить общий объем спермы (семенной плазмы) (напр., стерильным шприцем).
3. Перенести 100 мкл семенной жидкости/семенной плазмы в пробирку.
4. Дозатором добавить по 100 мкл стандартных растворов фруктозы (см. ниже процедуру их приготовления) в отдельные пробирки и проводить те же манипуляции, что и с образцом семенной жидкости/семенной плазмы.
5. Добавить по 500 мкл Реагента 1 (ТСА) к образцу и стандартам и перемешать.
6. Центрифугировать 10 минут при 1000 g или более.
7. Пипеткой перенести по 20 мкл супернатанта (образца и растворов стандартов), полученного на шаге 6, в чистые пробирки Эппендорфа или маленькие пробирки для реагентов.
8. Приготовление контрольного образца (бланка, пустой пробы): добавить 20 мкл дистиллированной воды в пустую пробирку Эппендорфа или маленькую пробирку для реагентов.
9. Добавить по 200 мкл Реагента 2 (HCl) в каждую из пробирок.

**Примечание:** проводите приведенные ниже шаги 10-13 в вытяжном шкафу, поскольку Реагент 3 токсичен при вдыхании (см. раздел *Предупреждение и предостережение*).

10. Добавить по 20 мкл Реагента 3 (индола) в каждую из пробирок.
11. Закрыть или запечатать пробирки и инкубировать 30 мин при 37 °C в водяной бане или в подходящем твердотельном нагревателе (рекомендуется), или 60 мин при 37 °C в суховоздушном инкубаторе.
12. Добавить 200 мкл Реагента 4 (NaOH) для прекращения реакции окрашивания.
13. Пипеткой перенести по 200 мкл образца/стандартов в лунки планшета и измерить оптическую плотность на планшетном фотометре при длине волны 450-492 нм.

### **Приготовление стандартных растворов фруктозы**

В набор входит раствор фруктозы с концентрацией 5 мг/мл.

Приготовьте стандартные растворы со следующими концентрациями фруктозы для построения стандартной кривой:

<i>Стандартные растворы</i>	<i>Раствор фруктозы, поставляемый в наборе</i>	<i>Вода</i>
5 мг/мл	100 мкл	0
2,5 мг/мл	50 мкл	50 мкл
1 мг/мл	20 мкл	80 мкл

**Примечание:** Для приготовления растворов используйте очищенную (дистиллированную) воду.

### **ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Измеренное в образце значение оптической плотности (ОП) сопоставляется со стандартной кривой (для ее построения используются 3 концентрации стандартных растворов, описанные выше): значения ОП откладываются по оси Y, а концентрация фруктозы – по оси X. Для того, чтобы получить значение общего содержания фруктозы, умножьте полученный результат на общий объем образца спермы или семенной плазмы.

Нормальные значения в соответствии с руководством ВОЗ составляют:

- 2,4 мг/эякулят или более
- 13 мкмоль/эякулят или более

Примечание: График стандартной кривой линеен до 0,5 мг/мл, меньшие количества фруктозы с помощью этого набора не определяются достаточно точно.

Низкие значения содержания фруктозы в сперме характерны для обструкции семявыбрасывающего протока, врожденного двустороннего отсутствия семявыводящих протоков, частичной ретроградной эякуляции и андрогенного дефицита (ВОЗ, 2010).

### **ХАРАКТЕРИСТИКИ ТЕСТА**

Коэффициент вариации в пределах одного анализа: 8 % (повторяемость)

Коэффициент вариации для серии анализов: 13 % (суммарная воспроизводимость)

### **ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ**

Хранить реагенты при температуре 2-8 °С 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 °С).

Цвет флакона с Реагентом 2 (HCl) может незначительно измениться (до оранжевого или розового, но жидкость остается прозрачной), что не влияет на результаты теста.

### **ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ И ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ**

Реагент 1 (раствор ТСА): Вызывает сильные ожоги. Очень токсичен для водных организмов, может вызывать долгосрочные неблагоприятные последствия для водной окружающей среды. При попадании в глаза немедленно промыть обильным количеством воды и обратиться к врачу. При любых происшествиях или при недомогании немедленно обратитесь к врачу.

Реагент 2 (32% раствор HCl): Вызывает ожоги, оказывает раздражающее действие на дыхательную систему. При попадании в глаза немедленно промыть обильным количеством воды и обратиться к врачу. При любых происшествиях или при недомогании немедленно обратитесь к врачу. Никогда не добавляйте воду в концентрированную HCl.

Реагент 3 (индол в метаноле): Токсичен при проглатывании. Избегайте попадания на кожу и в глаза. Легко воспламеним. Токсичен при проглатывании или при вдыхании паров.

**Всегда работайте в вытяжном шкафу при использовании данного реагента.**

Реагент 4 (NaOH): Вызывает ожоги. При попадании в глаза немедленно промыть обильным количеством воды и обратиться к врачу. При любых происшествиях или при недомогании немедленно обратитесь к врачу.

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:

$$g = 1,118 \times r \times \text{RPM}^2,$$

где r – радиус центрифуги (ротора) в мм,

RPM – число тысяч оборотов в минуту.

Например:

$$r = 100 \text{ мм}, \text{ RPM} = 3 \text{ тысячи оборотов в минуту}$$

$$g = 1,118 \times 100 \times 9 = 1006$$

### **ПРОИЗВОДИТЕЛЬ:**

FertiPro N.V., Бельгия

[www.fertipro.com](http://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

Е-mail: [cell.diagnost@gmail.com](mailto:cell.diagnost@gmail.com)

[www.celldiagnostic.by](http://www.celldiagnostic.by)



**СПИСОК ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ**

WHO laboratory manual for the Examination and processing of human semen - 5th Edition. World Health Organization, 2010.