

KIT DE DOSAGE DU FRUCTOSE SEMINAL

REF 062S – Kit pour 30 mesures

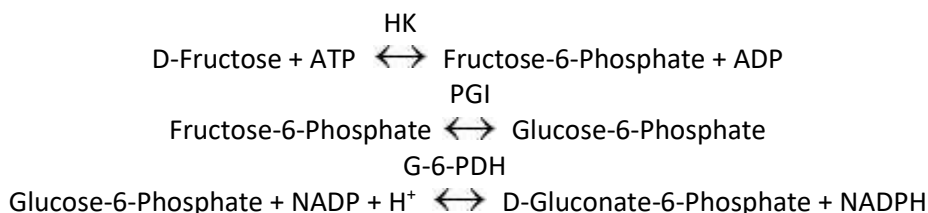


UTILISATION PREVUE

Le Kit de dosage du Fructose Séminal **Biosentec** est utilisé afin de déterminer la concentration en Fructose d'un échantillon de plasma séminal (voir paragraphe « Echantillon »). Cet hexose est essentiel pour les spermatozoïdes puisqu'il constitue leur source d'énergie. Chez le sujet normal, la concentration en Fructose se situe autour de 12,5 mM. Une augmentation de la concentration s'observe par exemple au cours d'une inflammation ou infection des vésicules séminales, une diminution s'il y a obstruction du canal déférent de ces vésicules. Le suivi de la concentration en Fructose donne donc une information sur l'état de cette glande.

RESUME

Pour son dosage, le Fructose est transformé en Fructose-6-Phosphate par l'action de l'Hexokinase (HK), puis en Glucose-6-Phosphate par la Phosphoglucose-Isomérase (PGI), et enfin en D-Gluconate-6-Phosphate par la Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase (G-6-PDH) en réduisant le NADP en NADPH. La formation du NADH est mesurée par spectrophotométrie à 340 nm :



La quantité de NADPH formé est proportionnelle à la quantité de Fructose initialement présente dans l'échantillon.

REACTIFS

REACTIF N°1	Tampon / ATP / NADP	3 et 6mmol/L	30mL
REACTIF N°2	HK et G6PDH	>150 et >200 U	0,6mL
REACTIF N°3	PGI	>300U	0,6mL
SOLUTIONS CONTROLES HAUT	Fructose	Voir étiquette	3mL
SOLUTIONS CONTROLES BAS	Fructose	Voir étiquette	3mL

VALEURS USUELLES

10 à 20 mmol/L de Fructose dans le plasma séminal

Il est recommandé que chaque laboratoire établisse un intervalle de référence tenant compte de la population étudiée.

STABILITE ET CONSERVATION

Si l'emballage extérieur est détérioré, vérifier que les flacons sont intacts. Dans ce cas, ils peuvent être utilisés. Dans le cas contraire, contacter Biosentec.

Fermés et stockés entre 2 et 8°C, les réactifs sont stables jusqu'à la date inscrite sur les étiquettes. Une fois ouverts, ils doivent être utilisés sous 8 semaines et stockés entre 2 et 8°C.

La stabilité est garantie en l'absence de contamination bactérienne.

Elimination des réactifs : se conformer à la fiche de sécurité du kit.

ECHANTILLONS

Le dosage doit être effectué sur un échantillon de liquide séminal préalablement déprotéinisé avec la méthode décrite dans PROCEDURE à la partie PRETRAITEMENT.

Facteur de Dilution à utiliser dans les calculs : 6,11

PROCEDURE

MATERIEL FOURNI

Voir la partie REACTIFS.

MATERIEL REQUIS

- Des cuvettes utilisables à 340nm. Un spectrophotomètre capable de lire la Densité Optique à 340nm, avec un emplacement thermostaté pour la cuvette de lecture. Des pipettes permettant de prélever des volumes précis. Chronomètre.
- Acide perchlorique HClO₄ 0,3M
- Potassium carbonate K₂CO₃ 1M
- H₂O distillée

PRETRAITEMENT (un seul prétraitement pour le dosage du Citrate, du Fructose et de la Carnitine dans le sperme)

- Mélanger 125µL de plasma séminal dans 500µL d'acide perchlorique à 0.3M.
- Centrifuger à 2800g pendant 15 minutes à 4°C.
- Prélever 450µL du surnageant après centrifugation et les mélanger dans 100µL de K₂CO₃ à 1M.
- Centrifuger à nouveau à 2800g pendant 5 minutes à 4°C.
- L'échantillon est prêt à être analysé, ou il peut être congelé et stocké un mois.
- Facteur de dilution final = 6.11

PROCEDURE

Etape	Action		
1	<i>Pipeter dans les cuvettes :</i>		
	Réactifs	Blanc	Echantillon / Contrôle
	Réactif N°1	1mL	1mL
	Réactif N°2	0,02mL	0,02mL
	Echantillon	-	0,05mL
	Eau distillée	2mL	1,95mL
2	<i>Mélanger et mesurer l'absorbance après 5 minutes : DO initiale</i>		
3	<i>Pipeter dans les cuvettes :</i>		
	Réactif N°3	0,02mL	0,02mL
4	<i>Mélanger et mesurer l'absorbance après 15 minutes : DO finale</i>		

Merci de vous référer à la partie CALCULS pour déterminer la concentration en Fructose de l'échantillon

CONTROLE QUALITE

Les réactifs du kit de dosage du Fructose doivent être validés par le dosage du contrôle inclus dans le kit. La solution contrôles est à doser en suivant directement la PROCEDURE ci-dessus (pas de traitement nécessaire). Un dosage du contrôle hors des variations indiquées sur le flacon indique que l'analyse n'est pas correcte. Cette analyse doit être répétée. Si le problème persiste, contactez **Biosentec**.

CALCULS

La concentration de l'échantillon en Fructose est directement proportionnelle au delta de DO suivant :

$$\Delta DO = [DO \text{ finale} - DO \text{ initiale}]_{\text{échantillon}} - [DO \text{ finale} - DO \text{ initiale}]_{\text{blanc}}$$

La concentration en Citrate est calculée par l'équation suivante :

$$C = \frac{V}{\varepsilon \times l \times v} \times FD \times \Delta DO \times 1000 \text{ (mmol/L)}$$

Où :

- V = Volume total du mélange réactionnel (3,04mL)
- ε = Coefficient d'extinction molaire du NADH (6 220 L x mol⁻¹ x cm⁻¹)
- l = Longueur du trajet optique (1cm)
- v = Volume d'échantillon (0,05mL)
- FD = Facteur de Dilution (6,11 dans les conditions de prétraitement indiquées)
- 1000 = Facteur de conversion d'unité

Soit dans les conditions de l'analyse :

$$C = 59,724 \times \Delta DO \text{ (mmol/L de Fructose dans l'échantillon)}$$

EXEMPLE

Pour un $\Delta DO = 0,300$ la concentration correspondante en Fructose est de : $0,300 \times 59,724 = 17,92$ mmol/L.

INTERPRETATION

Le kit ne permet de rendre un résultat précis que lorsque la valeur de ce dernier se trouve dans la gamme de linéarité. Si le résultat calculé est inférieur à la limite basse de linéarité, il doit uniquement être conclu qu'il y est inférieur. De même, si le résultat calculé est supérieur à la limite haute de linéarité, il doit uniquement être conclu qu'il y est supérieur.

PERFORMANCES

REPRODUCTIBILITE

Trente analyses de deux échantillons (17,5mM et 41mM) ont été réalisées avec 3 lots de kits différents. Chaque série de 30 analyses de chacun des échantillons possède un Coefficient de Variation inférieur à 10%.

SENSIBILITE

La limite de détection, évaluée à 0,80 mmol/L, a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 lots de kits différents. La limite de quantification, évaluée à 2,63 mmol/L, a été réalisée sur une série de 30 blancs avec 3 lots de kits différents.

CORRELATION

Les résultats obtenus par la méthode décrite dans cette procédure ont été comparés à ceux obtenus avec ceux provenant de la méthode utilisée dans un centre hospitalier sur une même série de 54 patients. Cette comparaison a été évaluée via le coefficient de corrélation de Pearson (r) et a été calculé afin d'évaluer l'intensité du lien qui peut exister entre les deux méthodes. $r=0,7854$

LINEARITE

Les concentrations mesurées par ce kit sont proportionnelles aux Densités Optiques mesurées lorsqu'elles sont comprises entre 3,125 mmol/L et 112,5 mmol/L.

INTERFERENCES

Le plasma séminal doit subir un prétraitement à l'acide perchlorique avant d'être utilisable. Cette étape élimine les interférents endogènes.

Le glucose représente 2,4% de la concentration en fructose dans le liquide séminal*. Le temps d'attente avant la prise de DO initiale (étape 2 de la procédure de dosage) permet d'éliminer cette faible quantité de glucose pouvant interférer dans le dosage.

Cependant, chez les diabétiques, ce pourcentage augmente grandement, rendant le diagnostic biaisé pour la concentration en fructose chez les patients atteints par cette pathologie.

L'utilisation de matériel propre et stérile élimine la possibilité d'avoir des interférents exogènes.

* : Rune Eliasson, 1964

INFORMATIONS COMPLEMENTAIRES



Date d'expiration



Référence



Numéro de Lot



A conserver entre 2 et 8°C



BIOSENTEC
65 Allées Campferran
31320 Auzeville- Tolosane



IN VITRO DIAGNOSTIC