

**DAC-SPECTROMED S.R.L.**

МД-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64
 Тел.: +37322/ 574900, 574922/23; факс: +37322/ 574920
 Email: office@dacspectromed.com
www.dacspectromed.com

Fructose Sp-DAC.Lq

Код 3033F100 100 мл

PT MD 11-15796482-001:2003
 Только для диагностики «in vitro»

Хранить при 2-8°C**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФРУКТОЗЫ В СПЕРМЕ. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ УФ-МЕТОД****ПРИНЦИП МЕТОДА**

D-фруктоза, в присутствии АТР, реагирует с гексокиназой (HK) с образованием фруктоза-6-фосфата. Фруктоза-6-фосфат реагирует с фосфо-глюко-изомеразой (PGI) с образованием глюкоза-6-фосфата, который, в свою очередь, реагирует с глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (G6P-DH) с образованием NADPH.

Интенсивность образующейся окраски, измеренной при длине волны 340 (334-365) nm, пропорциональна концентрации фруктозы.

СОСТАВ НАБОРА

Good Buffer:	100 ml	pH 7,5
Буферный раствор		> 10 mmol/l
NADP		> 0,2 mmol/l
Substrat:	5 x 20 ml	
АТР		> 2 mmol/l
HK		> 10 U/l
Starter 1:	1 x 2,5 ml	
G6P-DH		> 5 U/l
Starter 2:	1 x 2,5 ml	
PGI		> 50 U/l
Diluent:	2 x 65 ml	
Раствор для разведения образцов		
Standard:	5 ml	
Фруктоза		1 mg/ml

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ РЕАГЕНТОВ

Реагенты при 2-8°C стабильны до срока, указанного на этикетке.

ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сперма. Используйте свежий образец.
 Перед тестированием образец отцентрифугируйте при 3000 об/мин в течение 10 минут и разведите 10 µl образца в 600 µl раствора **Diluent**.

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ

Анализатор, спектрофотометр или термостатирующий при 37°C фотометр с фильтром 340 (334-365) nm.
 Дозаторы от 10 µl до 1000 µl.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор предназначен только для диагностики **in vitro**.
 Реагенты содержат неактивные и консервирующие компоненты. Избегайте контакта с кожей и слизистыми.
 Возможные остатки реагентов и образцы пациентов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными лабораторными правилами.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ

Все реагенты, кроме **Substrat**, готовы к использованию.
Рабочий субстрат: растворите содержимое флакона с **Substrat** в 20 ml **Good Buffer**, осторожно перемешивая до полного растворения, избегая пенообразования.
Рабочий субстрат стабилен в течение 8 дней при 2-8°C, в течение 60 дней при -20°C.

Целесообразно **Рабочий субстрат** расфасовать в пластиковые пробирки в соответствии с ежедневной потребностью каждой лаборатории.

Внимание! Исключить повторное замораживание и размораживание **Рабочего субстрата**.

Starter 1 и **Starter 2** перед использованием перемешайте.

ПРОЦЕДУРА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

Метод:	конечная точка
Время реакции:	20 минут
Стабильность окраски:	60 минут
Длина волны:	340 nm (334-365)
Температура:	37°C
Длина оптического пути:	1 см
Установка нуля:	бланк по реагенту

1. Доведите температуру реагентов до 37°C.
2. Внесите в маркированные пробирки:

	Контроль	Стандарт (St)	Образец (O)
Рабочий субстрат	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Standard	-	20 µl	-
Разведенный образец	-	-	20 µl
Дистиллир. вода	20 µl	-	-
Starter 1	25 µl	25 µl	25 µl

3. Содержимое пробирок тщательно смешайте, инкубируйте 10 min при 37°C.
4. Учтите Абсорбции **Standard (A_{1St})** и **Образца (A_{1o})** при длине волны 340 nm против **Контроля**.

Starter 2	25 µl	25 µl	25 µl
------------------	--------------	--------------	--------------

5. Содержимое пробирок тщательно смешайте, инкубируйте 10 min при 37°C.
6. Учтите Абсорбции **Standard (A_{2St})** и **Образца (A_{2o})** при длине волны 340 nm против **Контроля**.

ВЫЧИСЛЕНИЯ

Концентрация фруктозы (C_o) в образце вычисляется по следующей общей формуле:

$$\frac{A_{2o} - A_{1o}}{A_{2St} - A_{1St}} \times C_{St} \times 61 = C_o$$

Где:

- C_o - концентрация фруктозы в образце;
- A_o - абсорбция образца;
- A_{St} - абсорбция стандарта;
- 61 - коэффициент разведения образца;
- C_{St} - концентрация фруктозы в стандарте, mg/ml.

РЕФЕРЕНТНЫЙ ИНТЕРВАЛ

Фруктоза 2 - 5 mg/ml.
 Данные величины ориентировочны, рекомендуется в каждой лаборатории установить референтный интервал для своего населения.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для контроля хода реакции и процедуры измерения рекомендуется использовать нормальные и патологические **Контрольные сыворотки** с известной концентрацией фруктозы.

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

- Предел чувствительности: 0,015 mg/ml (эквивалентно 0,9 mg/dl в цельном образце).
- Предел линейности: 1,5 mg/ml в разведенном образце (эквивалентно 90 mg/ml в цельном образце).
- Воспроизводимость в пределах периода:

Средняя концентрация	CV*	n*
12,37 mg/dl	2,84 %	10
44,70 mg/dl	2,96 %	10

- Воспроизводимость от периода к периоду:

Средняя концентрация	CV*	n*
12,44 mg/dl	3,43 %	10
45,65 mg/dl	3,32 %	10

* Где: CV–коэффициент вариации; n–количество определений.

- Достоверность: Анализ 25 образцов методом Фруктоза ЛТА и сравнительным методом дал следующие результаты:

Фруктоза ЛТА = x

Фруктоза сравнительным методом = y

n = 25

$y = 0,9953x - 0,00319 \text{ мг/дл} \quad r = 0,99883$

Детали сравнительных экспериментов предоставляются по запросу.

Данные метрологические характеристики были получены на анализаторе. Результаты могут варьировать в зависимости от используемого оборудования или процедуры определения.

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Фруктоза - главный источник энергии для эякулированных сперматозоидов. Подвижность и жизнеспособность сперматозоидов зависят от скорости расщепления фруктозы – фруктолиз.

Образование фруктозы почти полностью происходит в семенных пузырьках под влиянием андрогенов, и поэтому по её концентрации можно судить о секреторной функции семенных пузырьков.

Обнаружение нормального уровня фруктозы подтверждает наличие семенных пузырьков и исключает врожденное отсутствие семявыносящих протоков или редко встречающуюся обструкцию эякуляторного протока.

Низкая концентрация фруктозы встречается у пациентов с низкой концентрацией андрогенов или указывает на врожденное отсутствие семявыносящего протока или семенных пузырьков, либо обструкцию эякуляторного протока в результате воспалительных заболеваний (вместе с малым объемом эякулята и нарушением коагуляции спермы). Особенно важно это исследование при азооспермии, когда сочетание низкого уровня фруктозы, pH и ненормально высокого содержания лимонной кислоты указывают на врожденное отсутствие семенных пузырьков. Если у больного отсутствуют проявления синдрома Клайнфельтера, необходимо определить содержание фруктозы в семенной жидкости и ФСГ в сыворотке. Если концентрация ФСГ выше верхней границы нормы в 1,5 раза, дальнейшее обследование не нужно из-за высокой вероятности тяжелого, невосстановимого повреждения семенных канальцев. В этом случае показана вазография - для оценки состояния эякуляторных путей, и биопсия яичек - для установления наличия сперматогенеза. Существует много различных методов для определения фруктозы в семенной жидкости.

Клинический диагноз должен устанавливаться на основе интеграции клинических и лабораторных данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bergmeyer, N. U., Gruber W & Gutman, I (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, N. U., Hrsg.) 3, Aufl., Bd. 2, S. 1368-11371, Verlag Chemie, Weinheim, And (1974) in Methods of Enzymatischen Analyse (Bergmeyer, N. U., ed.) Vol 3 pp. 1323-1326; Verlag Chemie, Weinheim & Academic Press, Inc., New York and London.
2. Beutler, H. O. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 3rd ed., Vol. VI pp. 356-362; Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel.