

Fruktosetest

für 96 photometrische Bestimmungen der
Fruktosekonzentration im Seminalplasma auf einer
Mikrotiterplatte
CE-gekennzeichnet

Bestellnr.: 3053



Inhalt:

Reagenz 1: 1 Flasche mit 50ml TCA

Reagenz 2: 1 Flasche mit 25ml HCl konz. (32%ig)

Reagenz 3: 1 Flasche mit 3ml Indol

Reagenz 4: 1 Flasche mit 25ml NaOH (0,5M)

Fruktosestandard: 1Flasche mit 10ml (5mg/ml=27,75mM)

Lagerung:

Bei 2-25°C vor Licht geschützt aufbewahren.

Haltbarkeit:

12 Monate ab Herstellungsdatum.

Hinweis:

Für jede Charge ist ein Analysenzertifikat online bei
www.fertipro.com erhältlich.

FertiKult Gück GmbH
Zietenstraße 25a
10783 Berlin

Tel. 030 - 21 47 37 38
Fax 030 - 21 47 37 39

office@fertikult.de
www.fertikult.de



Anwendungsbereich

Der Fruktosetest dient der Bestimmung des Fruktosegehaltes in humanem Samen oder Seminalplasma. Der Gehalt an Fruktose ist Ausdruck für die sekretorische Funktionsfähigkeit der Samenblase.

Gebrauchsanleitung

Testprinzip:

Fruktose + Indol $\xrightarrow{37^\circ\text{C}, \text{HCl}}$ Komplexbildung,

Absorption bei Wellenlängen zwischen 470nm und 492nm.

Benötigte Materialien:

- Mikrotiterplattenleser / Photometer (470-492nm Filter)
- Mikropipetten und Spritzen
- Zentrifugenröhrchen
- Mikrotiterplatte
- Zentrifuge (+1000g)
- schmale Reagenzröhrchen oder Eppendorfreaktionsgefäße
- Wasserbad



Durchführung:

1. Lassen Sie die Samenprobe bei Raumtemperatur verflüssigen.
2. Ermitteln Sie das Gesamtvolumen der Samenprobe oder Seminalplasmas (z. B. mittels einer sterilen Spritze).
3. Pipettieren Sie 100µl der Samenprobe oder des Seminalplasmas in ein Teströhrchen.
4. Pipettieren Sie von den drei vorbereiteten Fruktosestandards (siehe unten Standardherstellung) jeweils 100µl in drei weitere Teströhrchen und behandeln diese wie Samenproben weiter.
5. Geben Sie 0,5ml Reagenz 1 (ätzend, enthält TCS) zu jedem Röhrchen hinzu und mischen die Probe.
6. Zentrifugieren Sie 10 Minuten bei mindestens 1000g.
7. Überführen Sie jeweils 20µl des Überstands (oder Standards) in ein Eppendorfröhrchen oder schmales Reagenzröhrchen.
8. Pipettieren Sie 20µl Wasser als Negativkontrolle in ein weiteres Eppendorfröhrchen oder schmales Reagenzröhrchen.
9. Fügen Sie 200µl Reagenz 2 (ätzend, enthält Salzsäure) zu jedem Röhrchen hinzu.
10. Pipettieren Sie 20µl Reagenz 3 (Indol, gesundheitsschädlich) in jedes Röhrchen.
11. Verschließen Sie die Röhrchen und inkubieren sie im Wasserbad bei 37°C 30 Minuten (oder 60 Minuten bei 37°C im Inkubator).
12. Stoppen Sie die Farbreaktion durch Zugabe von 200µl Reagenz 4 (ätzend, enthält NaOH).
13. Geben Sie 200µl aus jedem Röhrchen in eine leere Vertiefung der Mikrotiterplatte und bestimmen die optische Dichte bei 470-492nm.

Fruktose-Standards:

Das Testkit enthält eine 5mg/ml (ca. 27,75 µmol/mmol) Fruktose-Standardlösung. Stellen Sie drei Lösungen mit den folgenden Fruktosekonzentrationen aus der Fructose-Standardlösung her:

Standard	Fruktose-Standardlösung	Wasser
5,0 mg/ml	100 µl	0 µl
2,5 mg/ml	50 µl	50 µl
1,0 mg/ml	20 µl	80 µl

Benutzen Sie bitte zur Herstellung der Standardverdünnungen gereinigtes Wasser (z. B. destilliertes Wasser).

Interpretation:

Tragen Sie die gemessenen optischen Dichten (OD) der drei Standard-Lösungen über der jeweiligen Fruktose-Konzentration auf und ziehen Sie ein Ausgleichsgerade durch die drei Punkte. Markieren Sie auf der Geraden die OD Ihrer Patienteb-Probe. Die Konzentration der Probe kann nun auf der unteren Achse abgelesen werden.

Zur Ermittlung der Gesamtmenge an Fruktose, wird die abgelesene Konzentration mit dem Gesamtvolumen der Samenprobe oder des Seminalplasmas multipliziert.



Hinweis:

Die Standardkurve verläuft linear bis 0,5mg/ml, geringere Fruktosekonzentrationen können mit diesem Test nicht exakt gemessen werden.

Normalwerte entsprechend WHO:

Mindestens 2,4mg Fruktose/Ejakulat (entsprechend $> 13\mu\text{mol}$ Fruktose/Ejakulat).

Berechnung der Umdrehungszahl der Zentrifuge

Die Umdrehungszahl Ihrer Zentrifuge kann mit folgender Formel ermittelt werden:

$$\begin{aligned} \text{Upm} &= \text{Umdrehungen pro Minute} \\ r &= \text{Radius der Zentrifuge in mm} \\ \text{Upm} &= \left[\frac{g}{1,118 \cdot r} \right]^{1/2} \cdot 1000 \end{aligned}$$

Beispiel: Sie wollen bei 300g zentrifugieren. Der Radius beträgt 100mm. Bei wieviel Upm müssen Sie zentrifugieren?

$$\text{Upm} = \left[\frac{300}{1,118 \cdot 100} \right]^{1/2} \cdot 1000 = [2,68]^{1/2} \cdot 1000 = 1638$$

Sicherheitshinweise/Vorsichtsmaßnahmen:

Reagenz 1 (Trichloressigsäure-Lösung) verursacht schwere Verbrennungen, ist sehr giftig für Wasserorganismen und kann lang anhaltende Beeinträchtigungen des aquatischen Lebensraums verursachen. Bei Augenkontakt sofort mit Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Im Falle eines Unfalls oder bei Unwohlsein suchen Sie sofort einen Arzt auf.

Reagenz 2 (konz. HCl) verursacht Verbrennungen und Irritationen der Atemwege. Bei Augenkontakt sofort mit viel Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Im Falle eines Unfalls oder bei Unwohlsein suchen Sie sofort einen Arzt auf. Geben Sie niemals Wasser zur konzentrierten Säure!

Reagenz 3 (Indol) ist gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Vermeiden Sie Haut- und Augenkontakt. Leicht entzündlich.

Reagenz 4 (NaOH) verursacht Verbrennungen. Bei Augenkontakt sofort mit viel Wasser spülen und ärztlichen Rat einholen. Im Falle eines Unfalls oder bei Unwohlsein suchen Sie sofort einen Arzt auf.

Alle humanen organischen Substanzen sollten als potentiell infektiös betrachtet werden. Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie HIV oder Hepatitis übertragen könnten. Tragen Sie immer Sicherheitskleidung, wenn Sie mit Proben und Reagenzien arbeiten (Handschuhe, Kittel, Augen-/Gesichtsschutz).

