

Citric Acid Test – 96 Tests

TEST PHOTOMÉTRIQUE PERMETTANT DE QUANTIFIER L'ACIDE CITRIQUE DANS LE PLASMA SÉMINAL HUMAIN

Référence du document : FP09 I37 R01 A.6

Mise à jour : 19/04/2016

IVD

Réactif réservé à un usage professionnel

GÉNÉRALITÉS

Les produits de sécrétion de la prostate constituent environ un tiers du liquide séminal dans lequel les spermatozoïdes sont en suspension. La concentration d'acide citrique dans le sperme donne une mesure fiable de la sécrétion de la prostate (Comhaire, 1986). On a avancé l'hypothèse que l'acide citrique pourrait être important dans le maintien de l'équilibre osmotique du sperme ; cet équilibre va, à son tour, modifier la fonction de la membrane et la morphologie des spermatozoïdes.

Le dosage de l'acide citrique peut aider à évaluer le diagnostic et la prise en charge de l'infertilité masculine.

PRINCIPE DU TEST

Le dosage de l'acide citrique se fait en deux étapes :

1. Les spermatozoïdes et les particules sont retirés par l'isopropanol.
2. Après centrifugation, du chlorure de fer est ajouté au surnageant. Les ions de Fe^{3+} et le citrate forment un complexe qui donne une couleur jaune à la solution. L'intensité de cette couleur est directement liée à la quantité de citrate et peut être mesurée à l'aide d'un photomètre ou d'un lecteur de plaque.

MATÉRIEL INCLUS DANS LE KIT

Réactif 1 - 20 ml de solution de $FeCl_3$ (Mousse facilement : Ne pas agiter)

Réactif 2 - 10 ml d'isopropanol

Réactif 3 - 2 ml d'acide citrique standard (4 mg/ml)

Un certificat d'analyse et une FDS sont disponibles sur demande ou au téléchargement sur notre site internet.

MATÉRIEL NON INCLUS DANS LE KIT

- Lecteur de plaque / Photomètre (filtre 405 nm)
- Pipettes et embouts
- Tubes à centrifuger
- Plaque
- Centrifugeuse (+1 500 g)
- Petits tubes pour réactifs ou tubes Eppendorf

MODE D'UTILISATION

1. Ajouter 100 μ l de réactif 2 à 100 μ l de sperme ou de plasma séminal et mélanger.
2. Étalon : mélanger 100 μ l de solution étalon à 100 μ l de réactif 2.
3. Centrifuger pendant 10 minutes à 1 500 g ou plus.
4. Pipeter 25 μ l de surnageant dans un puits vide.

Remarque : Retirer très soigneusement le surnageant afin de ne pas aspirer de sédiment. Si le surnageant est trouble, centrifuger de nouveau à une vitesse supérieure pendant encore 10 minutes

5. Ajouter 200 μ l de réactif 1 dans le puits, doucement.
6. Lire les résultats des échantillons et de l'acide citrique étalon à 405 nm.

INTERPRÉTATION

La valeur mesurée (OD) de l'échantillon est divisée par celle de l'acide citrique étalon et multipliée par la concentration de l'étalon (4 mg/ml).

$$\text{Acide citrique mg/ml} = \frac{\text{OD échantillon}}{\text{OD étalon}} \times 4 \text{ mg/ml}$$

Pour obtenir les quantités totales d'acide citrique, multiplier le résultat par le volume total des prélèvements de sperme ou de plasma séminal. La valeur normale est de 10 mg d'acide citrique ou plus par éjaculat (OMS, 1992).

Une diminution du taux d'acide citrique a été identifiée chez des patients souffrant de prostatite et chez des patients présentant une azoospermie (Comhaire, 1986). Kanyo (1975) a conclu qu'un faible taux d'acide citrique dans l'éjaculat confirme le diagnostic urologique de prostatite chronique ou d'hypogonadisme.

FIABILITÉ TEST-RETEST

4 prélèvements différents ont été testés 10 fois chacun :

Moyenne (mg/ml)	10,69	10,97	10,65	11,91
E.T.	0,521	0,581	0,796	0,648
C.V. %	4,87	5,29	7,47	5,44

0, 1, 2 et 3 mg d'acide citrique ont été ajoutés à 5 échantillons qui ont ensuite été soumis à un dosage de l'acide citrique. Les résultats d'analyse de l'échantillon sans ajout ont été soustraits des résultats des échantillons avec ajout, puis comparés à l'étalon :

Ajout	0	1	2	3
Observé	0	1,2	1,9	3,4
Récupération	-	120%	95%	115%

CONSERVATION

Possibilité de transport ou de conservation de courte durée à des températures élevées (jusqu'à 5 jours à 37°C). Conserver les réactifs à une température comprise entre 2°C et 25°C, à l'abri de la lumière. Un produit peut être utilisé jusqu'à 12 mois après la date de production.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

Réactif 1 : Nocif si ingéré. Irritant pour la peau. Risques de lésions oculaires graves.

Réactif 2/3 : Hautement inflammable. Irritant pour les yeux. Les vapeurs peuvent causer de la somnolence et des étourdissements.

Tout matériel organique humain doit être considéré comme potentiellement infectieux. Manipuler tous les échantillons comme s'ils pouvaient transmettre le VIH ou l'hépatite. Toujours porter des vêtements de protection pour manipuler les échantillons et les réactifs (gants, blouse, protection yeux/visage).

CALCUL DES FORCES G

La force g de votre centrifugeuse peut être calculée à l'aide de cette formule :

$$g = 1,118 \times r \times \text{rpm}^2 \quad \text{ou} \quad \text{rpm} = \text{racine carrée} \{g / (1,118 \times r)\}$$

r = rayon de centrifugation en mm

rpm = rotations par minute / 1 000

ex. 1

$$r = 100 \text{ mm} \quad \text{rpm} = 3\,000 \text{ rotations par minute}$$

$$g = 1,118 \times 100 \times 9 = \underline{1006g}$$

ex. 2

$$r = 100 \text{ mm} \quad g = 1\,200 \text{ g}$$

$$\begin{aligned} \text{rpm} &= \text{racine carrée} \{1\,200 / (1,118 \times 100)\} = 3,28 \\ &= \underline{3280} \text{ rotations par minute} \end{aligned}$$

BIBLIOGRAPHIE

F.H. Comhaire; Male Infertility. Clinical investigation, cause evaluation and treatment - 1st Edition; Chapman & Hall; 1986

WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction, 3rd Edition, Cambridge Press, 1992

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



FertiPro N.V.
Industriepark Noord 32
8730 Beernem - Belgique
E-mail : info@fertipro.com
URL : <http://www.fertipro.com>

