

Діагностичний набір для визначення активності нейтральної альфа-глюкозидази в спермі та насінній плазмі людини.

Ідентифікатор документа: FP09 I87 R01 C.1

Оновлення: 22/12/2022

Для діагностики *in vitro*

Реагент лише для професійного використання.



ЗАГАЛЬНА ІНФОРМАЦІЯ

Набір EpiScreen Plus™ може допомогти в діагностиці та лікуванні чоловічого безпліддя. Цей аналіз може бути використаний для визначення активності нейтральної альфа-глюкозидази в спермі (плазмі), ферменту, який в основному секретується придатком яєчка¹.

Активність цього ферменту є надійним маркером функції придатків яєчок у пацієнтів з (дуже) низькою концентрацією сперматозоїдів або азооспермією, які мають нормальний рівень андрогенів у крові:

- Дуже низька активність вказує на двосторонню обструкцію між придатком яєчка та сім'явидною протокою²
- Низька активність може відобразити часткову обструкцію придатка яєчка²
- Нормальна активність ферменту очікується при наявності обструкції над ділянкою, в якій секретується фермент, або у випадках необструктивної азооспермії (дисфункції яєчка)^{2,3}

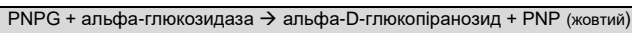
ПРИЗНАЧЕННЯ

EpiScreen Plus – це напівкількісний, неавтоматизований, фотометричний та діагностичний набір для виявлення нейтральної альфа-глюкозидази в спермі або насінній плазмі людини, який може бути корисним для діагностики та лікування чоловічого безпліддя.

Один набір EpiScreen Plus™ дозволяє здійснити 25 тестів.

ПРИНЦИП ТЕСТУВАННЯ

Принцип тесту базується на наступній реакції:



За вказаних умов (pH=6,8; T=37°C) 1 МО альфа-глюкозидази вивільняє 1 мкмоль PNP за хвилину з субстрату PNPg⁵. Жовтий колір PNP можна виміряти спектрофотометрично при довжині хвилі 405 нм. Активність альфа-глюкозидази виражається в МО/л (або мМО/мл).

Примітка. Реакційний буферний розчин містить SDS, що вибірково інгібує кислу форму альфа-глюкозидази, що надходить із простати. Це дозволяє специфічно визначати активність нейтральних ферментів⁴.

Примітка. Оскільки фонові дисперсія зразків сперми доволі велика (+/- 20%), ми рекомендуємо приготувати негативний контрольний зразок для кожного зразка сперми (плазми) з використанням розчину інгібітору. Цей розчин інгібітору містить глюкозу, яка пригнічує активність альфа-глюкозидази⁶.

МАТЕРІАЛИ, ЩО ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

- Реагент 1 (5 мл): реакційний буфер (pH 6,8), доповнений 1% SDS
- Реагент 2 (0,25 мл): 50-кратний розчин субстрату (PNPG в ДМСО)
- Реагент 3 (5 мл): розчин інгібітору (реакційний буфер, що містить глюкозу)
- Реагент 4 (60 мл): стоп-буфер (0,02 М NaOH)
- Реагент 5 (1 мл): вихідний стандартний розчин (5 мМ PNP)
- Реагент 6 (60 мл): стандартний буфер для розведення (0,02 М NaOH + 0,1% SDS)

Сертифікат аналізу та MSDS (паспорт безпеки речовини (матеріалу)) надаються за запитом або їх можна завантажити з нашого веб-сайту (www.fertipro.com).

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЯКІ НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ:

Планшетний зчитувач, фотометр (фільтр 405 нм), термощейкер, термоблок або тепла водяна баня, піпетка з новими наконечниками, пробірки Еппендорфа по 1,5 мл, мікротитровальний планшет

МЕТОД

Відскануйте штрих-код (або перейдіть за посиланням www.fertipro.com), щоб переглянути демонстраційне відео.



ЗРАЗОК

Стандартні контейнери для збору сперми слід використовувати, коли сперма збирається шляхом мастурбації. Вони, як правило, виготовлені з поліпропілену і перевірені на виживання/рухливість сперматозоїдів. Коли збір сперми шляхом мастурбації неможливий, слід використовувати нетоксичні для сперми пластикові презервативи. Центрифугуйте зразок сперми, наприклад, при 3000 г протягом 10-15 хвилин, щоб отримати насінну плазму без сперматозоїдів.

Аналіз можна проводити на свіжих або заморожених/розморожених зразках сперми та насінній плазмі.

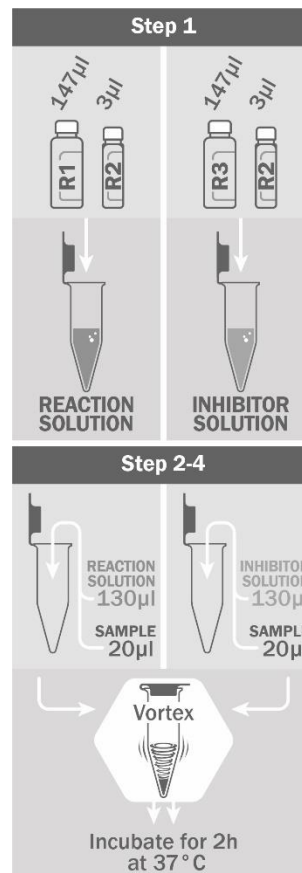
ПІДГОТОВКА РЕАГЕНТІВ

Не використовуйте продукт, якщо пломба флаконів розкрита або пошкоджена під час доставки набору.

Прогрійте реагенти 1, 2 і 3 до 37°C протягом 30 хвилин (примітка: в реагенті 1 можливе випадання осаду, але він зникає при попередньому прогріванні).

МЕТОД EPISCREEN PLUS

Графічне представлення протоколу та опис:



1. Для кожного зразка сперми (плазми), що підлягає аналізу:

– приготуйте реакційний розчин: 3 мкл реагенту 2 (розчин субстрату) в 147 мкл реагенту 1 (реакційний буфер);

– приготуйте розчин інгібітору: 3 мкл реагенту 2 (розчин субстрату) в 147 мкл реагенту 3 (розчин інгібітору).

2. Піпетуйте по 20 мкл кожного зразка сперми (плазми) у дві пробірки Еппендорфа по 1,5 мл.

3. В одну реакційну ємність додайте 130 мкл реакційного розчину, в іншу – 130 мкл розчину інгібітору (для негативного контрольного зразка).

4. Перемішайте вихровим способом та інкубуйте рівно 2 години за температури 37°C у терморегульованій теплій водяній бані, термощейкері для реакційних пробірок або термоблоці (Уникайте використання повітряного інкубатора: це може призвести до погіршення результатів аналізу!).

5. Під час інкубації зразків сперми (плазми) приготуйте розчини для розведення для PNP-стандартної кривої:

а. Зробіть найвищий стандарт 200 мкМ: розчиніть 100 мкл реагенту 5 (вихідний стандартний розчин) у 2400 мкл реагенту 6 (стандартний буфер для розведення). Акуратно перемішайте.

б. Використовуйте цей розчин для приготування інших стандартів, як зазначено в таблиці нижче. Реагент 6 сам по собі слугує стандартом 0 мкМ PNP (холостий зразок).

Стандартні розведення PNP

| Стандарти PNP | Стандарт 200 мкМ | Реагент 6 |
|---------------------------|------------------|-----------|
| 200 мкМ | 500 мкл | 0 мкл |
| 150 мкМ | 375 мкл | 125 мкл |
| 100 мкМ | 250 мкл | 250 мкл |
| 50 мкМ | 125 мкл | 375 мкл |
| 10 мкМ | 25 мкл | 475 мкл |
| 0 мкМ (= холостий зразок) | 0 мкл | 500 мкл |

- Після 2 годин інкубації зразків (реакційний зразок та інгібітор) зупиніть реакцію: вийміть пробірки з термоблоку/теплої водяної бані/термошейкера, додайте 1 мл реагенту 4 (стоп-буфер) і перемішайте вихровим способом.
- Піпеткою внесіть по 200 мкл всіх зразків і стандартів (підготовлених на кроці 5) у мікротитровальний планшет. Бажано зробити це з дублюванням.
- Виміряйте значення поглинання на фотометрі при довжині хвилі 405 нм.
- Після кожного окремого тесту всі використані реагенти та матеріали слід утилізувати.

РОЗРАХУНОК/ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ



Завантажте таблицю розрахунку в форматі Excel з нашого веб-сайту та внесіть дані в таблицю для

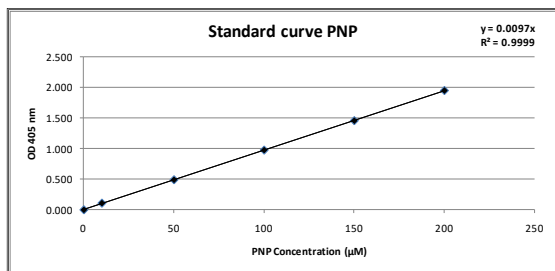
підрахунку результатів.

ПРИНЦИП:

- Усередніть значення показань дублювання для кожного стандарту та зразка.
- Відніміть середнє значення поглинання холостого зразка (0 мкМ PNP-стандарту) з усіх показань стандарту і зразка. Це значення поглинання з поправкою на холосту пробу. Використовуйте тільки ці значення поглинання з поправкою на холосту пробу в наступних розрахунках.
- Побудуйте криву PNP-стандарту (стандартні концентрації по осі X та значення оптичної густини (ОГ) з поправкою на холостий зразок по осі Y). Виконайте лінійну регресію для розрахунку нахилу. Коефіцієнт детермінації (R^2) повинен бути $\geq 0,99$.
- Для кожного реакційного зразка: відніміть значення фону насінневої плазми (= значення ОГ_{РЕАКЦІЇ} з поправкою на холостий зразок – відповідне значення ОГ_{ІНГІБІТОРА} з поправкою на холостий зразок). Це поглинання ваших зразків з поправкою на фон.
- Використовуйте рівняння регресійної кривої для розрахунку концентрації PNP у невідомому зразку. (Концентрація PNP = значення ОГ / нахил з поправкою на фон)
- Розрахуйте активність ферменту (в мМО/мл) шляхом множення концентрації PNP на 0,479 (більш детальну інформацію про те, як було визначено «поправочний коефіцієнт», можна знайти в розділі найпоширеніших запитань на сторінці продукту на нашому веб-сайті).
- Нормальні значення для нейтральної альфа-глюкозидази у спермі/спермальній плазмі людини: $\geq 5,88$ мМО/мл.

Приклад

Дані аналізу та стандартна крива:



Нахил кривої = 0,0097 (рівняння кривої: $y = 0,0097x$), $R^2 = 0,9999$
ОГ холостого зразка (0 мкМ PNP-стандарту) = 0,045

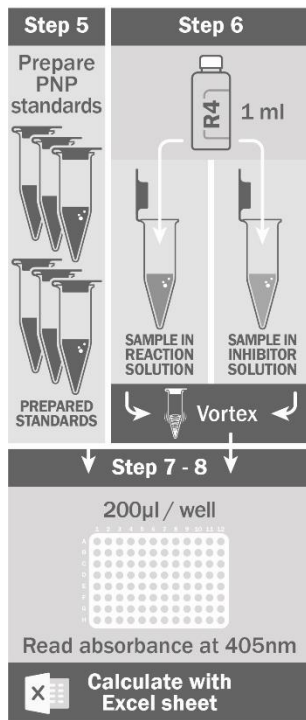
ОГ_{РЕАКЦІЇ} = 0,845 → з поправкою на холостий зразок: 0,845 - 0,045 = 0,800

ОГ_{ІНГІБІТОРА} = 0,060 → з поправкою на холостий зразок: 0,060 - 0,045 = 0,015

ОГ_{ЗРАЗКА З ПОПРАВКОЮ НА ФОН} = 0,800 - 0,015 = 0,785

Концентрація PNP = 0,785 / 0,0097 = 80,93 мкМ

Активність ферменту в мл = 80,93 мкМ x 0,479 = 38,76 мМО/мл



ОБМЕЖЕННЯ МЕТОДУ

Набір EpiScreen Plus є допоміжним засобом у діагностиці чоловічого безпліддя і, як і для інших біологічних тестів, інтерпретація результатів повинна проводитися в рамках клінічної картини та даних збору анамнезу. Необхідно виключити інші причини недостатньої епідидимальної секреції, такі як гіпоандрогенія або тяжка атрофія яєчок.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ЕФЕКТИВНОСТІ

Повторюваність і відтворюваність: $CV_{intra} < 15\%$, $CV_{inter} < 15\%$

Межа виявлення: 1,66 мМО/мл

Діапазон вимірювання: 5,02 - 95,8 мМО/мл

Відсічення: $\geq 5,88$ мМО/мл

ЗБЕРІГАННЯ / УТИЛІЗАЦІЯ

- EpiScreen Plus стабільний протягом 24 місяців з дати виготовлення (навіть після відкриття).
- Не застосовуйте виріб після закінчення терміну придатності.
- Зберігайте реагенти за температури від 2°C до 8°C.
- Не заморозуйте.
- Тримайте подалі від (сонячного) світла.
- Підходить для транспортування або короточасного впливу за підвищених температур (протягом не довше 5 днів за температури 37°C)
- Реагенти необхідно утилізувати відповідно до місцевих правил утилізації медичних виробів.

ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Усі людські органічні матеріали слід розглядати як потенційно інфекційні. Поводьтеся з усіма зразками як з такими, що здатні передавати ВІЛ або гепатит. Під час роботи зі зразками та реагентами завжди надягайте захисний одяг (рукавички, лабораторний жилет, засоби захисту очей/обличчя). Реагенти 1, 3 та 5 містять азид натрію.

Про будь-який серйозний інцидент, що стався (як визначено в «Європейському регламенті щодо медичних виробів для діагностики in vitro 2017/746»), слід повідомити компанію FertiPro NV та, за необхідності, компетентний орган держави-члена ЄС, в якій зареєстрований користувач та/або пацієнт.

БІБЛІОГРАФІЯ

- Cooper TG, Yeung CH, Nashan D, Jöckenhovel F, and Nieschlag E. (1990) Improvement in the assessment of human epididymal function by the use of inhibitors in the assay of alpha-glucosidase in seminal plasma. *Int. J. Androl.*, 13: 297-305
- Guerin JF, Ben Ali H, Rollet J, Souchier C, and Czyba JC. (1986) Alpha-glucosidase as a specific epididymal enzyme marker. Its validity for the etiologic diagnosis of azoospermia. *J. Androl.*, 7: 156-162
- Mahmoud AM, Geslevich J, Kint J, Depuydt C, Huysse L, Zalata A, and Comhaire FH. (1998) Seminal plasma alpha-glucosidase activity and male infertility. *Hum Reprod*, 13: 591-595.
- Paquin R, Chapdelaine P, Dubé JY, Tremblay RR (1984) Similar biochemical properties of human seminal plasma and epididymal alpha-1,4-glucosidase. *J. Androl.*, 5: 227-282
- WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen, sixth edition. Geneva: World Health Organization; 2021
- Yao X, Mauldin R, Byers L. (2003) Multiple sugar binding sites in α -glucosidase. *Biochim. Biophys. Acta*, 1645: 22-29

ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА

Уповноважений представник в Україні Фізична Особа Підприємець Валах Наталія Миколаївна Україна, 65049, м. Одеса, вул.Жаботинського,6 Тел. (048) 795-67-45, (068) 254-52-66



FertiPro NV
Industriepark Noord 32
8730 Beernem
Belgium (Бельгія)



2797



EPI_PLUS

СЛОВНИК СИМВОЛІВ

| Символи, визначені стандартом ISO 15223. | | | |
|---|--|---|------------------------|
|  | Номер за каталогом |  | Код партії |
|  | Тримайте подалі від (сонячного) світла |  | Виробник |
|  | Див. інструкцію із застосування |  | Термін придатності |
|  | Діагностика in vitro |  | Температурні обмеження |
| Символ, визначений стандартом IVDR 2017/746 | | | |
|  | СЕ маркування Нотифікованим органом 2797 | | |