# FertiPro Spermiendiagnostik



# Drüsenfunktionstest

# **EpiScreen Plus™**

Funktionsprüfung der Nebenhoden: empfindlichster Marker für die Funktionsfähigkeit der Nebenhoden ist die Aktivität der neutralen  $\alpha$ -Glukosidase im Seminalplasma.

Die Glukosidase-Aktivität lässt Rückschlüsse auf die **Ursachen für Azoospermie und Oligozoospermie** zu.

Sie benötigen: 2 x 20 µl Sperma oder Seminalplasma

Zeitaufwand: 180 Minuten



CE-Kennzeichen, WHO-konform

3011

spezif. Bestimmung von neutraler  $\alpha$ -Glukosidase im Seminalplasma

25 Tests

24 Monate/2-8 °C

# Fragen & Antworten zu EpiScreen Plus™:

## Wie viele Tagesansätze kann ich mit EpiScreen Plus™ durchführen?

Sie entscheiden, ob Sie Proben sammeln oder zum Teil auch einzeln messen. Insgesamt können Sie die 25 möglichen Tests auf 9 Tage verteilen.

# Gibt es eine Möglichkeit, die Berechnungen zu vereinfachen?

Ja! In Kooperation mit FertiPro stellen wir Ihnen eine deutsche Berechnungsvorlage zum Download unter www.fertikult.de bereit. Bei Benutzung eines Küvetten-Photometers kontaktieren Sie uns bitte für eine angepasste Vorlage.

## Inwiefern lässt das Testergebnis Rückschlüsse auf Azoo- und Oligozoospermie zu?

Eine sehr geringe  $\alpha$ -Glukosidase-Aktivität tritt bei Patienten mit Azoospermie als Folge eines doppelseitigen Verschlusses zwischen Nebenhoden und Samenleitern auf. Ist die Azoospermie dagegen auf eine Hemmung der Spermienreifung, einen Verschluss des Hodennetzes oder einen Verschluss zwischen Hodennetz und Nebenhoden zurückzuführen, ist die Enzym-Aktivität normal. Bei Patienten mit Oligozoospermie kann eine niedrige Aktivität des Enzyms einen partiellen Verschluss der Nebenhoden widerspiegeln, hervorgerufen durch Infektionen oder entzündliche Prozesse.

## Reagenz 1 ist trüb! Was kann ich tun?

Reagenz 1 des Kits enthält SDS, eine Trübung ist somit normal. Erwärmen Sie die Lösungen 1, 2 und 3 vor Gebrauch bei 37 °C, dann löst sich auch der Niederschlag.

# Warum bietet FertiPro keinen Test auf Zink im Seminalplasma an?

Zink ist ein Marker für die Prostata-Funktion, genauer für deren sekretorische Kapazität. FertiPro bietet Ihnen für die Überprüfung der Prostata-Funktionalität den Citric Acid Test auf die gut korrelierende Zitronensäure an.

# Kein Mikrotiterplatten-Photometer? Kein Problem!

Für EpiScreen Plus™, Fructose Test™ und Citric Acid Test wird ein Mikrotiterplatten-Photometer empfohlen. Für die Durchführung mit einem Küvetten-Photometer benötigen Sie Halb-Mikro-Küvetten, das zu messende Endvolumen beträgt 200 μl.

Bei Fragen zu notwendigen Änderungen am Standardprotokoll kontaktieren Sie uns bitte.

# RiliBÄK gemäße Kontrollen:

Nach RiLiBäK 2008/2011 müssen Sie für alle quantitativen Untersuchungen interne Qualitätskontrollen durchführen. Dies bedeutet, dass Sie bei jeder Analysenserie 2 verschiedene Kontrollproben mitführen müssen, die sich vom Kalibriermaterial unterscheiden. Zur Zeit bieten wir keine Kontrollen an.

# Gebrauchsanweisung EpiScreen Plus™

Weitere ausführliche Informationen entnehmen Sie bitte der Packungsbeilage.

Artikelnummer **3011** 

## benötigte Materialien:

- Photometer mit Wellenlängeneinstellung 405 nm
- Pipetten 10 μl, 20 μl und 200 μl
- sterile Eppendorf Reaktionsgefäße (1,5 ml)



Scannen Sie diesen QR-Code und schauen Sie sich das Anwendungsvideo an!

# **Durchführung des EpiScreen Plus™ Tests:**

- 1. Erwärmen Sie die Reagenzien 1, 2 und 3 auf 37 °C (30 min im Wasserbad).
- 2. Für jede zu analysierende (Plasma)Probe:
  - Stellen Sie eine Reaktionslösung her: Vermischen Sie 3  $\mu$ l Reagenz 2 in 147  $\mu$ l Reagenz 1
  - Stellen Sie eine Inhibitorlösung her: Vermischen Sie 3 μl Reagenz 2 in 147 μl Reagenz 3
- 3. Pipettieren Sie je 20 µl Sperma bzw. Seminalplasma in 2 1,5-ml-Eppendorfröhrchen.
- 4. Fügen Sie zu dem einen Röhrchen 130  $\mu$ l der Reaktionslösung und zu dem anderen Röhrchen 130  $\mu$ l Inhibitorlösung (als Negativkontrolle) hinzu. Vortexen Sie die Proben und inkubieren Sie sie anschließend für exakt 2 Stunden bei 37 °C (Wasserbad oder Heizblock).
- 5. Während der Inkubation der Proben erstellen Sie die Verdünnungen für die PNP-Standardkurve:
  - Stellen Sie den 200  $\mu$ M-Standard durch Lösen von 100  $\mu$ l Reagenz 5 in 2400  $\mu$ l Reagenz 6 her. Vorsichtig mischen.
  - Hieraus erstellen Sie, wie in der Tabelle der Packungsbeilage angegeben, je 500  $\mu$ l weitere Standardlösungen mit den Konzentrationen 150  $\mu$ M, 100  $\mu$ M, 50  $\mu$ M und 10  $\mu$ M. 500  $\mu$ l Reagenz 6 dienen als Nullstandard (0  $\mu$ M).
- 6. Nach 2 Stunden Inkubation der Proben stoppen Sie die Reaktion durch Zufügen von jeweils 1 ml Reagenz 4 in beide Eppendorfröhrchen. Vortexen Sie die Proben.
- 7. Pipettieren Sie je 200 μl der Proben und PNP-Standards (unter Punkt 5 erstellt) in die Vertiefungen einer Mikrotiterplatte und ermitteln Sie die Absorptionen bei 405 nm.

Zu den Berechnungen, die unter den folgenden Punkten "Standardkurve" und "Ergebnis" durchgeführt werden müssen, hat FertiPro ein Excel-Kalkulationsblatt erstellt, das Ihnen diese abnimmt. Sie können es unter www.fertipro.com > Diagnostics > EpiScreen Plus herunterladen. Eine deutsche Version ist auf unserer Website www.fertikult.de verfügbar.

#### Standardkurve:

Ziehen Sie den Extinktionswert des Nullstandards jeweils von den Extinktionen der PNP-Standardlösungen ab. Tragen Sie diese Differenz über den Standard-Konzentrationen graphisch auf und ermitteln Sie über lineare Regression eine Ausgleichgerade mit einem Regressionskoeffizienten von mindestens 0,99 (siehe FertiPro-Gebrauchsanweisung).

## **Ergebnis:**

Von den Extinktionswerten jeder Probe ziehen Sie zunächst den Extinktionswert des Nullstandards ab, um die bereinigten Extinktionen zu erhalten. Sodann ermitteln Sie die Differenz zwischen den bereinigten Extinktionen der Lösungen "Probe" und "Probe + Glukose" jeweils eines Patienten. Über die Ausgleichsgerade der PNP-Standards berechnen Sie die PNP-Konzentration der Proben in µM z.B. über Teilen der Differenz durch die Steigung der Standardkurve.

Die Enzymaktivität in mIU/ml ist dann der Wert der Konzentration multipliziert mit 0,479.

#### Beispiel:

1.  $E'_{Probe}$  =  $E_{Probe}$  -  $E_{Nullstandard}$ 

 $E'_{Probe+Glukose} = E_{Probe+Glukose} - E_{Nullstandard}$ 

2.  $C_{Probe}$  =  $(E'_{Probe} - E'_{Probe+Glukose}) / Steigung_{Ausgleichsgerade}$ 

3. Enzymaktivität =  $C_{Probe} * 0,479 \text{ mIU/(mI*}\mu\text{M)}$ 

Zur Bestimmung der Enzymaktivität des Ejakulats multiplizieren Sie den letzten Wert einfach mit dem Ejakulatvolumen.

Cutoff-Wert: 20 mIU/Ejakulat bzw. 6.35 mIU/ml

## **Ergebnisbewertung:**

Die Interpretation der Ergebnisse muss unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und der Patientenanamnese erfolgen. Andere Gründe für eine niedrige epididymale Sekretion wie ein Hypoandrogenismus oder eine schwere testikuläre Atrophie sind ebenfalls abzuklären.

### Sicherheitshinweise/Vorsichtsmaßnahmen:

Alle Materialien müssen entsprechend lokaler und nationaler Gesetze sicher gehandhabt werden.

## Anpassungen bei Benutzung eines Küvettenphotometers

Die Standard-Konzentrationen 200  $\mu$ M und 150  $\mu$ M werden nicht benötigt, da diese unbrauchbare, zu hohe Absorptionen bei Gebrauch von Mikro- und Halbmikroküvetten hervorrufen. Die Linearität der Standardkurve kann bis zu einem Wert von 100  $\mu$ M garantiert werden. Diese Konzentration korrespondiert mit einer neutralen Enzym-Aktivität von 47,9 mIU/ml, die deutlich über dem Cutoff-Wert liegt. Ist die Aktivität höher als 47,9 mIU/ml, empfiehlt FertiPro, die Proben zu verdünnen und erneut zu testen.

## Lagerung, Transport und Stabilität:

EpiScreen Plus™ ist bei korrekter Lagerung 24 Monate ab Herstellung haltbar. Die geöffnete Packung kann 13 Monate verwendet werden. Ein Temperaturanstieg für bis zu 5 Tage auf 37 °C ist für den Transport oder eine kurzfristige Lagerung möglich.

Referenz: FP09 I87 R01 B.3, Update: 19/01/2017