

QUY TRÌNH

N.547 ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ KHÁNG TINH TRÙNG

Kháng thể kháng tinh trùng (Sperm antibody) có thể gây ra vô sinh ở phụ nữ hoặc nam giới. Kháng thể kháng tinh trùng có thể hòa tan trong tinh dịch khi xuất tinh hoặc gắn trên bề mặt của tinh trùng. Ở phụ nữ, kháng thể kháng tinh trùng có thể được tìm thấy trong chất nhầy cổ tử cung, dịch ống dẫn trứng và dịch nang. Dùng kỹ thuật ELISA để định lượng kháng thể tinh trùng trong tinh dịch người.

I. NGUYÊN LÝ

Dựa vào tính đặc hiệu của kháng nguyên-kháng thể theo phương pháp sandwich: các giếng được phủ bởi protein tinh trùng. Standard, tinh dịch và control được thêm vào, kháng thể tinh trùng trong tinh dịch kết hợp với protein tinh trùng phủ trên giếng, như vậy nó được cố định vào đĩa. Sau khi rửa đi các thành phần không kết hợp không kết hợp, enzym liên hợp được thêm vào. Tiếp sau khi các giếng được rửa lần hai, cơ chất được thêm vào giếng. Tiếp theo, thêm dung dịch ngừng phản ứng thêm vào sẽ chuyển từ màu xanh sang vàng, đậm độ màu tỉ lệ thuận với nồng độ kháng thể tinh trùng trong tinh dịch, được đo ở bước sóng 450 nm.

II. CHUẨN BỊ

1. Người thực hiện: 01 Bác sĩ hoặc cán bộ đại học và 01 kỹ thuật viên chuyên ngành Hóa sinh

2. Phương tiện, hóa chất:

- Máy phân tích máy xét nghiệm miễn dịch Alegria- hãng ORGENTEC/ Germany.
- Thuốc thử sẵn sàng sử dụng: Bộ xét nghiệm + Thuốc thử sẵn sàng sử dụng:

Bộ xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tinh trùng. Ngoài ra còn dung dịch hệ thống khác

- Bộ xét nghiệm cần được bảo quản trong bóng tối ở điều kiện 2-8°C. Không để hóa chất tiếp xúc với nhiệt, mặt trời hoặc ánh sáng mạnh trong suốt quá trình bảo quản và sử dụng.

Dụng cụ khác: + Máy vortex; Pipet 10 µL;

+ Ống đong thể tích 1000 mL và 2500 mL

+ Nước cất hoặc nước khử ion

3. Người bệnh: Không phụ thuộc nhịp sinh học hay yêu cầu gì

4. Phiếu xét nghiệm: có đầy đủ thông tin về bệnh nhân bao gồm họ tên, tuổi, khoa phòng, chẩn đoán, tình trạng mẫu, tên BS chỉ định, ngày giờ chỉ định, ngày giờ lấy mẫu, các loại thuốc đã sử dụng (nếu có)...

III. CÁC BƯỚC TIẾN HÀNH

1. Lấy bệnh phẩm:

- Thu thập tinh trùng mới xuất tinh, ly tâm ở nhiệt độ phòng, tách phần nổi lên trên vào tube, đậy kín. Tránh lặp lại bước làm đông và rã đông nhiều lần. + Xử lý tất cả các mẫu kỹ, tránh nhiễm bẩn. Mẫu có thể được bảo quản với thời gian khác nhau: Nhiệt độ môi trường lên đến 30°C: đến ba ngày; Nhiệt độ tủ lạnh (2°C - 8°C): đến một tuần; Làm đông (-10°C đến - 20°C): đến một năm

- Xử lý mẫu: Hòa loãng tất cả mẫu tinh dịch với dung dịch đệm theo tỉ lệ 1 : 5. Kết quả nhân với hệ số pha loãng. Ví dụ: hòa loãng 100 µL tinh dịch với 400 µL dung dịch đệm

2. Tiến hành kỹ thuật

- Chuẩn bị thuốc thử: Đưa tất cả thuốc thử về nhiệt độ phòng trước khi sử dụng. Dung dịch rửa: Hòa 50 ml dung dịch rửa với 450 ml nước cất để được dung dịch 500 ml. Sau khi pha, ổn định 4 tuần ở 4 °C - 8°C. Chất chuẩn; Chất kiểm tra chất lượng (QC: 2 mức): Sẵn sàng sử dụng

- Tiến hành theo quy trình cài đặt trên máy xét nghiệm. Việc chuẩn xét nghiệm định lượng kháng thể kháng tinh trùng, hiệu chuẩn mỗi khi thay đổi lô hóa chất. Kiểm tra chất lượng nằm trong giới hạn cho phép. Thông thường chạy nội kiểm (QC) 2 mức mỗi ngày: mức bình thường và không bình thường. Đối chiếu với luật về kiểm tra chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu .

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

- Giá trị tham khảo: 0 - 60 U/mL

- Giá trị tăng: > 60 U/mL. Trong trường hợp một giá trị trong phạm vi gần cut-off (55 đến 65 U/mL) thì khuyến cáo lấy mẫu sau 2 tuần để làm lại.

- Ý nghĩa lâm sàng: Định lượng kháng thể kháng tinh trùng có giá trị trong chẩn đoán một phần nguyên nhân vô sinh: Đàn ông có hơn 50% tinh trùng có kháng thể kháng tinh trùng cho thấy rõ ràng giảm tỉ lệ khả năng sinh sản.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

Có một số sai sót thường gặp:

- Tinh dịch phải là mới vừa xuất tinh.

- Ở nhiệt độ cao hơn 30°C, mẫu phải được vận chuyển để làm mát hoặc làm đông.

- Mẫu có kết quả vượt quá 250 U/mL thì phải hòa loãng mẫu với dung dịch S0.

- Lưu ý Calibrator và QC bảo quản thật tốt để có đường cong chuẩn đạt yêu cầu.