

QUY TRÌNH

23.239.(TT21) QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG INHIBIN A

Inhibin là hormone có bản chất heterodimeric protein (protein được cấu tạo bởi hai thành phần khác biệt) được tiết bởi các tế bào nang trứng ở nữ giới và các tế bào Sertoli của tinh hoàn ở nam giới. Inhibin ức chế chọn lọc sự bài tiết hormone kích thích nang tuyến yên (Follicle Stimulating Hormone- FSH) và cũng có hoạt động cận tiết khu trú trong các tuyến sinh dục. Dạng hoạt động hoàn toàn của các phân tử inhibin có trọng lượng phân tử xấp xỉ 32 kD và có cấu tạo gồm 2 chuỗi riêng biệt (α và β), được liên kết với nhau bởi cầu nối disulfide. Các dạng có trọng lượng phân tử lớn hơn cùng với các dạng tiền thân của tiểu đơn vị α cũng xuất hiện trong dịch nang và huyết thanh. Ngoài ra, các dạng tiểu đơn vị α tự do (không liên kết với tiểu đơn vị β và thiếu hoạt tính sinh học của inhibin) cũng có mặt. Inhibin A được cấu tạo bởi một tiểu đơn vị α và một tiểu đơn vị β_A .

Inhibin A được định lượng trong huyết thanh mẹ cùng với các xét nghiệm trong bộ 4 xét nghiệm Quad test (AFP + hCG + Estriol +Inhibin A)

I. NGUYÊN LÝ

Xét nghiệm Access Inhibin A là xét nghiệm miễn dịch enzyme 2 bước liên tục “sandwich). Mẫu xét nghiệm được thêm vào giếng phản ứng và được ủ cùng với phức hợp hạt thuận từ-kháng thể đơn dòng kháng inhibin A. Mẫu và các thuốc thử dư thừa sẽ được loại bỏ bằng cách rửa. Tiếp đó, phức hợp kháng thể đơn dòng kháng inhibin A-alkaline phosphatase được thêm vào hỗn hợp phản ứng nhằm phát hiện inhibin A gắn với các hạt thuận từ trong suốt quá trình ủ trước đó. Sau khi ủ trong giếng phản ứng, các thành phần gắn với pha rắn sẽ được giữ lại trong điện trường, trong khi đó các thành phần không gắn sẽ bị rửa trôi. Tiếp đó, chất nền quang hóa, Lummi-Phos*530, được thêm vào giếng phản ứng và ánh sáng phát ra trong phản ứng được đo bằng bộ phận đo quang. Cường độ ánh sáng tỷ lệ thuận với nồng độ của inhibin A trong mẫu. Lượng các chất cần phân tích có trong mẫu bệnh phẩm được xác định dựa trên đường cong hiệu chuẩn đa điểm đã chuẩn hóa được lưu trong máy.

II. CHUẨN BỊ

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

2.Phương tiện, hóa chất:

- Phương tiện: máy xét nghiệm miễn dịch DxI800, hãng Beckman Coulter, Mỹ

- **Hóa chất:** Hộp thuốc thử Access Inhibin A; Cat. No. A31588: 100 xét nghiệm, 2 hộp, 50 xét nghiệm/hộp.

R1a:	Các hạt thuận từ có phủ kháng thể đơn dòng chuột kháng inhibin A, BSA, chất nền đệm TRIS, <0.1% sodium azide và 0.1% ProClin*** 300.
R1b:	Phức hợp kháng thể đơn dòng chuột kháng inhibin A-alkaline phosphatase (bò), BSA, chất nền đệm phosphate, <0.1% sodium azide, và 0.25% ProClin 300.

R1c:	Muối đệm TRIS, BSA, protein (bò, chuột), <0.1% sodium azide và 0.25% ProClin 300.
R1d:	Đệm phosphate, chất oxi hóa.
R1e:	Đệm TRIS, chất tẩy rửa, <0.1% sodium azide, và 0.1% ProClin 300.

Hoá chất đã sẵn sàng để sử dụng. Bảo quản theo phương thẳng đứng ở 2 – 8°C. Ổn định cho đến hết hạn sử dụng ghi trên nhãn nếu được bảo quản ở 2 – 8°C. Sau lần dùng đầu tiên, thuốc thử ổn định ở 2-8°C trong vòng 28 ngày.

- Các chất chuẩn Access Inhibin A Calibrator; Các vật liệu kiểm chuẩn Access Inhibin A Quality Control (QC) hoặc các vật liệu kiểm chuẩn thương mại sẵn có khác

- Các loại dung dịch hệ thống khác: cơ chất phản ứng Substrate, DxI Wash Buffer

1. Người bệnh: Người bệnh được giải thích và tư vấn trước khi thực hiện XN, tốt nhất là nhịn ăn sáng và lấy máu vào buổi sáng.

2. 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 mẫu bệnh phẩm và xử lý mẫu:

- Lấy máu tĩnh mạch theo quy trình thường quy. Có thể sử dụng ống không chống đông hoặc ống có chất chống đông bằng Li- Heparin

Bệnh phẩm được nhận từ các khoa lâm sàng và bộ phận lấy mẫu phòng khám. Nhân viên nhận mẫu lấy thông tin bệnh nhân từ phần mềm quản lý Bệnh viện, in và dán barcode vào ống bệnh phẩm, sau đó cho ly tâm 4000 vòng trong 5 phút trước khi tiến hành kỹ thuật.

- Lưu ý: Luôn đặt nắp bệnh phẩm. Trong vòng 2 tiếng sau khi ly tâm, hút 500 µL huyết thanh/ huyết tương sang một ống khác để bảo quản. Đặt nắp ngay. Bảo quản các bệnh phẩm đặt nắp ở nhiệt độ phòng (15-30°C) không quá 8 tiếng. Nếu không tiến hành xét nghiệm trong vòng 8 tiếng, phải bảo quản bệnh phẩm ở 2-8°C. Nếu không tiến hành xét nghiệm trong vòng 48 tiếng, hoặc khi vận chuyển mẫu, phải làm đông ở -20°C hoặc lạnh hơn. Chỉ rã đông một lần duy nhất.

2. Tiến hành kỹ thuật

Máy xét nghiệm, hóa chất đã được chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Cần chuẩn lại sau 7 ngày hoặc khi thay đổi lô hóa chất. Kiểm tra chất lượng nằm trong giới hạn cho phép. Hàng ngày, chạy nội kiểm (QC) 2 mức: mức bình thường và không bình thường. Đối chiếu với luật về kiểm tra chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu .

Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm, trả, lưu kết quả vào hệ thống mạng, in phiếu kết quả xét nghiệm và trả kết quả cho người bệnh đúng thời gian quy định.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

Bình thường nồng độ Inhibin A huyết thanh/ huyết tương cho phép là:

Nam: < 1,0-2,0 pg/mL

Nữ hậu mãn kinh: < 1,0-2,1 pg/mL

2. Ý nghĩa lâm sàng:

Xét nghiệm Inhibin A thường được thực hiện cùng với các xét nghiệm (AFP + hCG + Estriol), gọi là Quadro test (bao gồm 4 xét nghiệm: AFP + hCG + Estriol + Inhibin A)

Trong đó:

1. AFP: Alpha-fetoprotein là một loại protein được sản xuất bởi bào thai.
2. hCG: Hormone được sản xuất bởi nhau thai
3. Estriol: là hormone estrogen được sản xuất bởi cả bào thai và nhau thai
4. Inhibin A: hormone được sản xuất bởi nhau thai và buồng trứng.

Quadro test (còn gọi tắt là Quad test) được thực hiện giữa tuần 15 và tuần 20 của thai kỳ bằng cách lấy máu từ tĩnh mạch cánh tay của thai phụ. Kết quả của Quad test cho thấy nguy cơ dị tật thai nhi hoặc sai lệch nhiễm sắc thể, chẳng hạn như tật nứt đốt sống hay hội chứng Down (3 NST số 21), Hội chứng Edwards (3 NST số 18). Inhibin A tăng là dấu hiệu nguy cơ hội chứng Down hơn so Triple test.

Tất cả thai phụ đều có thể làm xét nghiệm Quad nhưng Quad nên được thực hiện ở những phụ nữ sau:

- Có tiền sử gia đình về dị tật thai
- Thai phụ ≥ 35 tuổi
- Thai phụ sử dụng thuốc hoặc chất gây nghiện không được cho phép
- Thai phụ bị bệnh tiểu đường và phải dùng thuốc Insulin
- Mắc bệnh truyền nhiễm trong thai kỳ
- Tiếp xúc với chất phóng xạ

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Khi lớp nhựa đàn hồi gắn trên hộp hoá chất bị bong ra hoặc giá trị kiểm chuẩn ra ngoài dải, hóa chất có thể đã bị hỏng. Nếu hộp hoá chất bị hỏng (ví dụ: lớp nhựa đàn hồi bị bong ra), bỏ hộp hoá chất đó đi.

- Đảm bảo đã loại bỏ hoàn toàn fibrin trong mẫu bệnh phẩm trước khi xét nghiệm.
- Tránh làm xét nghiệm các mẫu máu nhiễm mỡ/ tan máu.

