

Thẩm định độ chính xác của bộ xét nghiệm tự pha để định lượng fructose trong tinh dịch phục vụ chẩn đoán vô sinh nam

Nguyễn Thị Trang*, Trần Thị Hồng Nhung, Bùi Bích Mai, Trần Lê Giang

Trường Đại học Y Hà Nội

Ngày nhận 13/8/2018; ngày chuyển phản biện 15/8/2018; ngày nhận phản biện 19/10/2018; ngày chấp nhận đăng 25/10/2018

Tóm tắt:

Fructose được hình thành trong túi tinh dưới tác động của testosterone và được tiết ra cùng với tinh trùng qua ống dẫn tinh trong mỗi lần xuất tinh nên fructose được coi là chất sinh hóa phản ánh trung thực chức năng của các thành phần này. Nồng độ fructose trong tinh dịch bình thường khẳng định vai trò của các testosterone và chức năng của túi tinh, ống dẫn tinh bình thường, không gặp hiện tượng tắc nghẽn. Nghiên cứu này được thực hiện trên 30 nam giới đến khám và làm xét nghiệm tinh dịch đồ tại Trung tâm Tư vấn di truyền, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Bộ kit tự pha theo phương pháp ROE cải tiến đã được sử dụng để định lượng nồng độ fructose trong tinh dịch. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ dung dịch TCA (Trichloroacetic acid - CCl_3COOH) tối ưu là 10%; thành phần phức hợp màu gồm 2,5 ml HCl 30% và 0,25 ml resorcinol 0,1%; độ lặp lại: $\text{CV}\% = 1,407\%$ ($< 5\%$); độ chụm trung gian: $\text{CV}\% = 2,032\%$ ($< 5\%$); độ đúng: $t_m = 0,906 < t_c = 2,262$. Kết quả, đã thẩm định thành công quy trình định lượng fructose trong tinh dịch bằng bộ xét nghiệm tự pha chế.

Từ khóa: fructose tinh dịch, phương pháp ROE cải tiến, phương pháp so màu, vô sinh nam.

Chỉ số phân loại: 3.2

Đặt vấn đề

Từ năm 1946, Mann đã phát hiện fructose trong tinh dịch dưới dạng Methyl-Phenyl-Fructosazone [1]. Fructose được hình thành trong túi tinh dưới tác động của testosterone và được tiết ra cùng với tinh trùng qua ống dẫn tinh trong mỗi lần xuất tinh.

Theo M. Rajalakshmi và cs (1989), G.F. Gonzales (2001), sự gia tăng mật độ tinh trùng thường đi kèm với sự giảm nồng độ fructose trong tinh dịch do tinh trùng sử dụng fructose là nguồn năng lượng chủ yếu [2, 3]. Tuy nhiên, cũng có nghiên cứu chỉ ra nồng độ fructose trong tinh dịch của những bệnh nhân ít tinh trùng (oligozoospermia) và không có tinh trùng (azoospermia) giảm hơn khi so sánh với người nam bình thường [4]. Năng lượng từ fructose là cơ sở dinh dưỡng chủ yếu cho tinh trùng, đảm bảo sự sản sinh, phát triển, từ đó ảnh hưởng đến tỷ lệ sống và khả năng di động của tinh trùng. Hoạt lực của tinh trùng liên quan chặt chẽ đến nồng độ fructose trong tinh dịch [5]. Độ di động của tinh trùng đã được chứng minh có mối tương quan tỷ lệ nghịch với nồng độ fructose [6]. Fructose được hình thành

trong túi tinh và bài tiết qua các ống dẫn tinh nên nó được coi là chất sinh hóa phản ánh trung thực chức năng của các thành phần này [7]. Nồng độ fructose trong tinh dịch bình thường khẳng định vai trò của testosterone và chức năng của túi tinh, ống dẫn tinh bình thường, không gặp hiện tượng tắc nghẽn [8]. Theo WHO (2010) và M. Gavella (1981), nồng độ fructose trong tinh dịch thấp là đặc trưng của tình trạng tắc nghẽn hệ thống ống dẫn tinh gặp trong bất sản ống dẫn tinh, bất sản túi tinh, thiếu hụt androgen hay xuất tinh ngược dòng [9, 10].

Ngoài ra, tương quan giữa nồng độ fructose trong tinh dịch với hình thái tinh trùng cũng được nhiều nghiên cứu quan tâm. Schoenfeld và cộng sự (1979) nghiên cứu về mối tương quan nghịch giữa nồng độ fructose và bất thường ở đuôi tinh trùng tiếp tục chứng minh sự cần thiết của fructose như một nguồn năng lượng cho sự vận động có hiệu quả của tinh trùng [11]. Fructose cũng có mối tương quan nghịch với bất thường đầu tinh trùng, điều này cho thấy rằng fructose trong tinh dịch còn có chức năng duy trì hoạt động của acrosome và chromatin nhân [12]. Chính vì vậy, nhiều nơi trên thế giới đã coi xét nghiệm nồng độ fructose là xét

*Tác giả liên hệ: Email: trangnguyen@hmu.edu.vn

Verifying the accuracy of self-manufactured test kit for determination of fructose concentration in semen for male infertility diagnosis

Thi Trang Nguyen*, Thi Hong Nhung Tran,
Bich Mai Bui, Le Giang Tran

Hanoi Medical University

Received 13 August 2018; accepted 25 October 2018

Abstract:

Fructose is formed in the seminal vesicle under the action of testosterone and is secreted along with the vas deferens during each ejaculation, so fructose is considered a biochemical agent that faithfully reflects the function of these components. Fructose concentrations in normal semen confirm the role of testosterone and the function of normal seminal vesicles, without the phenomenon of obstruction. **Materials and methods:** the semen samples were obtained from 30 male partners of infertile couples who had consultation at Genetic Counseling Centre of Hanoi Medical University Hospital, and the semen samples were analysed for the seminogram parameters. Fructose concentration was assessed using self-manufactured test kit (according to the improved ROE method). Results showed that the optimal solution concentration of TCA was 10%; composite color composition included 2.5 ml of HCl 30% and 0.25 ml of resorcinol 0.1%; repeatability was CV%=1.407% (<5%); intermediate precision was CV%=2.032% (<5%); correctness was $t_{ex}=0.906 < t_t=2.262$. In conclusion, the manufacturing procedure of the test kit for determination of fructose concentration in seminal fluid was successfully verified.

Keywords: improved ROE method, male infertility, seminal fructose, Spectrophotometric method.

Classification number: 3.2

nghiệm cơ bản trong chẩn đoán vô sinh nam.

Ở Việt Nam, xét nghiệm này được đưa vào ứng dụng lần đầu tiên tại Bệnh viện Việt Đức năm 2011 và tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ năm 2013. Từ đó đến nay, xét nghiệm này ngày càng được phổ biến ở các cơ sở y tế, góp phần chẩn đoán nguyên nhân vô sinh nam hay xác định các bất thường hệ sinh sản nam. Nhu cầu sử dụng bộ xét nghiệm để định lượng fructose trong tinh dịch ngày càng nhiều. Tuy nhiên, tại Việt Nam hiện nay chưa có đơn vị hay cơ sở nào sản xuất bộ xét nghiệm này. Do đó, tất cả bộ xét nghiệm đều phải nhập từ nước ngoài với nhiều chi phí trung gian làm tăng giá thành của xét nghiệm lên nhiều lần. Xuất phát từ tình hình thực tế này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: “Thẩm định độ chính xác của bộ xét nghiệm tự pha để định lượng fructose trong tinh dịch”.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là mẫu tinh dịch của những bệnh nhân nam đến khám, tư vấn, làm xét nghiệm tinh dịch đồ tại Trung tâm Tư vấn di truyền và Phòng khám Nam khoa - Tiết niệu, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 6/2017 đến tháng 3/2018.

Công thức tính cỡ mẫu cho một nghiên cứu mô tả tính theo công thức của S.K. Luanga và Lemeshow [13]:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{1-p}{\epsilon^2 p}$$

trong đó: $1-\alpha/2=0,95$; $\epsilon=0,10$; $p=95\%$ (độ chính xác của quy trình tham chiếu); n =số lần thực nghiệm cần thực hiện, tính được bằng 21, chúng tôi lấy số tròn là 30.

Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu: mẫu tinh dịch của các bệnh nhân nam trong độ tuổi sinh sản từ 18 đến 50 tuổi, không mắc các bệnh cấp tính và đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: nam giới bị các bệnh ung thư bộ phận sinh dục; nam giới bị nhiễm HIV, giang mai, lậu...; nam giới đang mắc các bệnh cấp tính, bệnh tâm thần; người không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Quy trình tiến hành xét nghiệm định lượng fructose trong tinh dịch

Bao gồm 5 bước sau:

+ Bước 1: tinh dịch được ly tâm ở 1.500 vòng/phút trong 10 phút. Bước này thực hiện nhằm lắng tể bào tinh trùng xuống dưới đáy và chỉ lấy lớp tinh dịch chứa fructose ở trên để làm xét nghiệm, vì lớp tinh trùng không sử dụng trong

xét nghiệm.

+ Bước 2: cho 100 μ l dịch nổi vào 400 μ l TCA 10%, trộn đều, ly tâm với tốc độ 3.000 vòng/phút trong 10 phút. Bước này được sử dụng để loại bỏ được các protein (sau ly tâm protein sẽ được kết tủa, chỉ thu lại dịch nổi chứa fructose).

+ Bước 3: lấy 100 μ l dịch nổi đã loại bỏ phần protein kết tủa bằng TCA, cho vào ống nghiệm khác có chứa 2,5 ml dung dịch HCl 30% và 250 μ l dung dịch resorcinol 0,1%. Ủ ở nhiệt độ 80-85°C trong 5 phút.

+ Bước 4: để nguội và đo mật độ quang (OD) với bước sóng 530 nm, kích thước curvet 1 cm. Với đối chứng, thay cho tinh dịch là 100 μ l TCA. Màu sắc dung dịch thu được không thay đổi trong vòng 2-3 tiếng.

+ Bước 5: xác định hàm lượng fructose với hệ số đã được xây dựng bởi hàm hiệu chuẩn.

$$C_{\text{fructose}} = E(OD) \times C(h) / E(h)$$

trong đó: E(OD) là mật độ quang học của fructose mẫu tinh dịch của bệnh nhân ở bước sóng 530 nm; C(h) là nồng độ fructose chuẩn trong hàm hiệu chuẩn; E(h) là mật độ quang học của fructose chuẩn ở hàm hiệu chuẩn; C(h)/E(h) là hệ số a xây dựng được từ hàm hiệu chuẩn.

Đây là nghiên cứu tiếp nối của nhóm nghiên cứu sau khi đã xác định được các thành phần hóa chất để pha chế bộ xét nghiệm gồm: TCA 10%; dung dịch HCl 15%; dung dịch resorcinol 0,1% trong ethanol 95^o pha bởi 0,1 g resorcinol trong 100 ml ethanol 95^o; fructose chuẩn.

Để hoàn thiện quy trình pha chế bộ xét nghiệm, chúng tôi tiến hành tối ưu nồng độ dung dịch TCA, thời gian tạo phức hợp màu và sau đó để xác định độ chính xác của bộ xét nghiệm tự pha, chúng tôi tiến hành đánh giá độ chụm, độ chính xác và độ đúng.

Các số liệu được thu thập và xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0.

Nghiên cứu tuân thủ các yêu cầu và đã được thông qua Hội đồng đạo đức nghiên cứu trong y học của Trường Đại học Y Hà Nội.

Kết quả

Lựa chọn thể tích TCA biến tính protein

Chúng tôi sử dụng TCA 10% để làm biến tính protein trong tinh dịch, tiến hành thử nghiệm 9 mẫu nồng độ fructose chuẩn với các thể tích TCA lần lượt là 0, 100, 200, 300, 400, 500 μ l thu được kết quả như bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ fructose theo thể tích TCA.

Nồng độ fructose chuẩn (g/l)	Thể tích TCA (μ l)					
	0	100	200	300	400	500
0,0	0,45	0,40	0,32	0,12	0	0,09
0,5	0,86	0,72	0,68	0,54	0,5	0,46
1,0	1,34	1,23	1,18	1,14	1,03	0,93
1,5	1,70	1,64	1,61	1,56	1,52	1,55
2,0	2,67	2,65	2,50	2,42	1,98	2,13
2,5	2,66	2,59	2,52	2,51	2,5	2,45
3,0	3,21	2,89	3,19	3,1	3,05	2,90
3,5	3,71	3,62	3,59	3,44	3,5	3,45
4,0	4,25	4,14	4,1	4,05	3,99	3,94

Nhận xét: nồng độ fructose với thể tích TCA 400 μ l cho kết quả đúng nhất, vì vậy chúng tôi lựa chọn thể tích này để làm biến tính protein trong tinh dịch.

Tạo phức hợp màu

Chúng tôi sử dụng chất chỉ thị màu là 250 μ l resorcinol 0,1% phản ứng với fructose trong tinh dịch ở môi trường acid mạnh (2,5 ml HCl 30%) và ủ trong 5 phút ở nhiệt độ 85°C để tạo phức hợp màu đỏ tươi. Độ đậm độ phức hợp màu tỷ lệ thuận với nồng độ fructose trong tinh dịch. Tiến hành thử nghiệm với 9 mẫu nồng độ fructose chuẩn, đo mật độ OD ở bước sóng 530 nm của phức hợp màu thu được ở các thời điểm sau 0, 1, 2, 3, 4, 5h chúng tôi thu được kết quả thể hiện trong bảng 2.

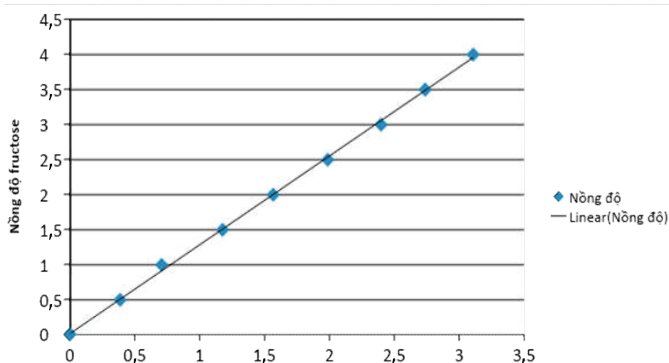
Bảng 2. Mật độ OD của phức hợp màu đo ở 530 nm theo thời gian.

Nồng độ fructose chuẩn (g/l)	Thời gian					
	0h	1h	2h	3h	4h	5h
0,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,38	0,37	0,38	0,37	0,33	0,31
1,0	0,70	0,70	0,71	0,70	0,65	0,61
1,5	1,17	1,17	1,18	1,16	1,11	1,00
2,0	1,56	1,56	1,55	1,56	1,52	1,49
2,5	1,98	1,98	1,98	1,97	1,93	1,90
3,0	2,39	2,39	2,39	2,39	2,31	2,29
3,5	2,73	2,73	2,73	2,72	2,65	2,61
4,0	3,10	3,10	3,10	3,09	3,05	3,01

Nhận xét: phức hợp màu có mật độ OD ổn định khi đo trong khoảng từ 0-3h, đo sau 3h mật độ OD có xu hướng giảm sẽ dẫn đến làm sai lệch nồng độ fructose.

Xây dựng hàm hiệu chuẩn

Hàm hiệu chuẩn được xây dựng với ngưỡng nồng độ fructose chuẩn lần lượt là 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 g/l, chúng tôi đo mật độ OD tương ứng với mỗi ngưỡng nồng độ fructose chuẩn theo quy trình xét nghiệm được hoàn thiện và dựng được đường chuẩn như biểu đồ 1.



Biểu đồ 1. Đường chuẩn nồng độ fructose theo OD ở bước sóng 530 nm.

Nhận xét: hàm hiệu chuẩn xây dựng được trong nghiên cứu này là $y=1,2797x$ với $r=0,99$. Trong đó, y là nồng độ fructose trong tinh dịch, x là mật độ OD đo được, r là hệ số hiệu chuẩn (sai số sau mỗi lần đo).

Xác định độ chính xác của bộ xét nghiệm

Độ lặp lại (bảng 3):

Bảng 3. Kết quả thực nghiệm độ lặp lại.

Lần đo	Nồng độ fructose chuẩn (mg/ml)	Độ hấp thụ	Nồng độ fructose đo được (mmol/l)
1	2,5	1,665	2,46
2	2,5	1,682	2,49
3	2,5	1,670	2,47
4	2,5	1,683	2,49
5	2,5	1,637	2,42
6	2,5	1,632	2,42
7	2,5	1,607	2,38
8	2,5	1,642	2,43
9	2,5	1,651	2,44
10	2,5	1,654	2,45
SD	0,034		
CV%	1,407		

Nhận xét: từ kết quả ở bảng 3, chúng tôi tính được độ lệch chuẩn $SD=0,034$ và hệ số biến thiên $CV\%=1,407$. Hệ số biến thiên của bộ kit tự pha chế nằm trong giới hạn cho phép ($CV\%<5\%$).

Độ chụm trung gian (bảng 4):

Bảng 4. Kết quả thử nghiệm độ chụm trung gian.

Lần thử	Nồng độ fructose chuẩn (mg/ml)	Nồng độ fructose đo được do các kiểm nghiệm viên (KNV) khác nhau (mg/ml)		
		KNV 1	KNV 2	KNV 3
1	2,5	2,55	2,45	2,39
2	2,5	2,55	2,48	2,43
3	2,5	2,51	2,58	2,52
4	2,5	2,57	2,65	2,60
5	2,5	2,50	2,56	2,54
6	2,5	2,50	2,56	2,52
7	2,5	2,52	2,59	2,52
8	2,5	2,52	2,59	2,52
9	2,5	2,52	2,50	2,54
10	2,5	2,55	2,52	2,51
SD	0,051			
CV%	2,032			

Nhận xét: với kết quả thu được từ bảng 4, sử dụng công thức tính độ chụm, chúng tôi thu được độ lệch chuẩn là $SD=0,051$, từ đó tính được hệ số biến thiên là $CV\%=2,032\%$. Hệ số biến thiên này nằm trong giới hạn cho phép $CV\%<5\%$.

Độ đúng (bảng 5):

Bảng 5. Kết quả thử nghiệm độ đúng.

Lần đo	Nồng độ fructose chuẩn (mg/ml)	OD	Nồng độ fructose đo được (mg/ml)
1	2,5	1,622	2,55
2	2,5	1,625	2,55
3	2,5	1,699	2,51
4	2,5	1,735	2,47
5	2,5	1,689	2,50
6	2,5	1,686	2,50
7	2,5	1,701	2,52
8	2,5	1,705	2,52
9	2,5	1,704	2,52
10	2,5	1,721	2,45

Nhận xét: với kết quả như trên, chúng tôi tính được sai số thử nghiệm $t_{tn}=0,906$. Bên cạnh đó, thông qua tra bảng có sai số lý thuyết $t_c=2,262$. Như vậy, $t_{tn}<t_c \rightarrow$ đạt được tiêu chuẩn kiểm nghiệm.

Bàn luận

Quy trình định lượng fructose trong tinh dịch bằng bộ xét nghiệm tự pha có nhiều điểm cải tiến với các quy trình hiện nay trên thế giới.

Về hóa chất cần chuẩn bị

Hóa chất cần cho pha chế bộ xét nghiệm định lượng fructose trong tinh dịch theo phương pháp so màu bao gồm: TCA 10%; dung dịch HCl 30%; dung dịch resorcinol 0,1% trong ethanol 95°; fructose chuẩn (Merck, Đức đạt chuẩn PE).

Việc chọn hóa chất như trên là điểm khác biệt giữa quy trình kỹ thuật này tại Việt Nam so với thế giới. Trên thế giới, chỉ thị màu sử dụng để tiến hành xét nghiệm định lượng fructose bằng phương pháp so màu thường được sử dụng là indol, đây là loại chỉ thị màu đắt và khó tìm mua tại Việt Nam. Ở đây, chúng tôi tiến hành pha dung dịch resorcinol 0,1% bằng resorcinol 0,1 g trong 100 ml ethanol 95°. Mặt khác, trong quá trình pha hoá chất không thể tránh khỏi các sai số. Tuy nhiên, với phương pháp định lượng fructose này, hàm hiệu chuẩn được xây dựng đối với các hóa chất sau mỗi lần pha. Khi sử dụng hết một trong các hóa chất thì cần xây dựng lại hàm hiệu chuẩn. Vì vậy, việc thiết kế bộ xét nghiệm cho nhiều mẫu, chia thành hai phần riêng gồm phức hợp chất tạo màu và chỉ thị màu để bảo quản lâu dài vừa giúp chúng ta hạn chế các sai số, vừa giúp sử dụng hoá chất một cách hiệu quả, tiết kiệm.

Về bước tạo phức hợp màu

Đây là điểm cải tiến nhiều nhất của quy trình này vì chỉ sử dụng HCl và resorcinol, so với phương pháp phiên bản gốc ROE sử dụng HCl, resorcinol và acid benzoic. Lượng HCl trong phiên bản gốc sử dụng 6 ml, resorcinol 2 ml, trong khi bộ xét nghiệm này chỉ sử dụng 2,5 ml HCl và 0,25 ml resorcinol cho 1 lần định lượng/1 bệnh nhân. Trong khi bộ xét nghiệm fructose test của hãng Fertipro sử dụng chỉ thị màu là indol độc, đắt, khó tìm ở Việt Nam và có thêm thành phần NaOH.

Về xây dựng hàm hiệu chuẩn

Ở bước xây dựng hàm hiệu chuẩn, chúng tôi cũng cải tiến so với phương pháp ROE. Khi ROE xây dựng quy trình pha chế bộ xét nghiệm sử dụng hàm hiệu chuẩn với các ngưỡng 0,1; 0,5 và 0,025 g/l. Theo WHO (2010), fructose ở người bình thường >1,3 g/l. Tuy nhiên theo các nghiên cứu sử dụng phương pháp ROE sau này thì fructose ở người bình thường 1,3-4 g/l. Trong khi việc xây dựng hàm hiệu chuẩn với khoảng cách càng nhỏ thì cho độ chính xác càng cao.

Giữa các lần pha hóa chất khác nhau, do yếu tố chủ quan hoặc khách quan, có thể có những yếu tố sai số khiến cho kết quả giữa 2 lô có sự khác biệt. Trong bộ kit này, để hạn chế các yếu tố gây nhiễu đó, đảm bảo tính ổn định kết quả giữa các lô hóa chất khác nhau, với mỗi lần pha hóa chất chúng tôi thực hiện xây dựng lại hàm hiệu chuẩn. Phương trình hàm hiệu chuẩn là $y=1,2797x$, hệ số tương

quan $r=0,99$. Như vậy khi tính toán, kết quả định lượng khi sử dụng lô hóa chất sau cần nhân với hệ số 1, đồng nghĩa với việc không cần thêm hệ số. Có thể thấy, giữa các lô hóa chất thử khác nhau không có sự khác biệt đáng kể về kết quả kiểm nghiệm.

Độ chính xác

Trong các thử nghiệm, đặc biệt là thử nghiệm định lượng, có rất nhiều yếu tố sai số ảnh hưởng tới thử nghiệm, dẫn tới không chính xác trong kết quả. Do đó, để kiểm soát các yếu tố gây nhiễu này, cần thiết sử dụng khái niệm độ chụm. Độ chụm mô tả kết quả chỉ phụ thuộc vào yếu tố sai số ngẫu nhiên mà không liên quan đến kết quả thực của mẫu. Độ chụm càng thấp thì độ lệch chuẩn hay hệ số biến thiên càng lớn, và ngược lại, độ chụm càng lớn thì hệ số biến thiên càng nhỏ. Độ chụm được tính toán dựa trên 3 thông số: độ lặp lại, độ chụm trung gian và độ tái lập. Mỗi thông số được thiết kế thực hiện trong các điều kiện khác nhau. Trong khuôn khổ nghiên cứu này, chúng tôi chỉ tiến hành thực nghiệm tính được độ lặp lại và độ chụm trung gian. Do không có phòng thí nghiệm tương đương nên không thể tiến hành tính toán độ tái lập.

Trong nghiên cứu này, bộ kit tự pha chế của chúng tôi có độ lặp lại với hệ số biến thiên $CV\%=1,407\%$. Như vậy, hệ số biến thiên có giá trị không vượt quá 5%, nói lên quy trình có độ lặp lại đạt yêu cầu của phép phân tích.

Khi tính toán độ chụm trung gian, chúng tôi thu được hệ số biến thiên là $CV\%=2,032\%$. Hệ số biến thiên này cũng có giá trị không vượt quá 5%, chứng tỏ quy trình đã đạt được yêu cầu của phép phân tích.

Như vậy, khi có tác động của các yếu tố sai số ngẫu nhiên, với cùng một mẫu, nồng độ đo được trong các điều kiện khác nhau có sai số trong khoảng chấp nhận được.

Khảo sát độ đúng

Độ đúng của phương pháp cho thấy mức độ gần nhau giữa kết quả thu được và giá trị thực hoặc giá trị được chấp nhận là đúng (μ). Với thực nghiệm kiểm định độ đúng, kết quả chúng tôi thu được là $t_{\text{m}}=0,906$. Đồng thời khi tra bảng, giá trị t_c thu được là 2,262. Như vậy $t_{\text{m}} < t_c$, và điều đó đồng nghĩa với việc nồng độ fructose đo được từ phương pháp này có kết quả giống với nồng độ thực của mẫu. Quy trình đạt được độ đúng theo yêu cầu của phép phân tích.

Kết luận

Quy trình định lượng fructose trong tinh dịch bằng bộ xét nghiệm do chúng tôi nghiên cứu có nhiều điểm cải tiến so với các quy trình hiện nay trên thế giới. Hóa chất cần cho pha chế bộ xét nghiệm này gồm:

Thành phần dung dịch biến tính TCA tối ưu là 10%.

Thành phần phức hợp màu 2,5 ml HCl 30% và 0,25 ml resorcinol 0,1% cho 1 lần định lượng/1 bệnh nhân và tối ưu trong khoảng từ 0-3h.

Độ lặp lại: CV%=1,407% (<5%).

Độ chụm trung gian: CV%=2,032% (<5%).

Độ đúng: $t_{\text{m}}=0,906 < t_c=2,262$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T. Mann (1946), "Fructose content and fructolysis in semen. Practical application in the evaluation of semen quality", *The Journal of Agricultural Science*, **38(3)**, pp.323-333.
- [2] M. Rajalakshmi, R.S. Sherma, G.F.X. David (1989), "Seminal fructose in normal and infertile men", *Contraception*, **39**, pp.299-306.
- [3] G.F. Gonzales (2001), "Function of seminal vesicles and their role on male fertility", *Asian J. Androl.*, **3(4)**, pp.251-258.
- [4] A. Carpino, V. De Sanctis, L. Siciliano, et al. (1997), "Epididymal and sex accessory gland secretions in transfusion-dependent beta-thalassemic patients: evidence of an impaired prostatic function", *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*, **105(3)**, pp.169-174.
- [5] B. Manivannan, S.S. Bhande, S. Panneerdoss, et al. (2005), "Safety evaluation of long-term vas occlusion with styrene maleic anhydride and its non-invasive reversal on accessory reproductive organs in langurs", *Asian J. Androl.*, **7(2)**, pp.195-204.
- [6] W.M. Buckett, D.I. Lewis Jones (2002), "Fructose concentrations in seminal plasma from men with non - obstructive azoospermia", *Arch. Andrology*, **48**, pp.23-27.
- [7] R. Kumar, S. Thulkar, V. Kumar, et al. (2005), "Contribution of investigations to the diagnosis of bilateral vas aplasia", *ANZ J. Surg.*, **75(9)**, pp.807-809.
- [8] E. Vicari, S. La Vignera, R. Castiglione, et al. (2006), "Sperm parameter abnormalities, low seminal fructose and reactive oxygen species overproduction do not discriminate patients with unilateral or bilateral post-infectious inflammatory prostatitis-epididymitis", *J. Endocrinol. Invest.*, **29(1)**, pp.18-25.
- [9] WHO (2010), *WHO Laboratory manual for the Examination and processing of human semen*, 5th edn., WHO Press: Geneva, Switzerland.
- [10] M. Gavella (1981), "Automated enzymatic fructose determination in Semen", *Andrologia*, **13(6)**, pp.541-546.
- [11] C. Schoenfeld, R.D. Amelar, L. Dubin, M. Numeroff (1979), "Prolactin, fructose, and zinc levels found in human seminal plasma", *Fertil. Steril.*, **32(2)**, pp.206-208.
- [12] F.T. Andrade-Rocha (2001), "Sperm parameters in men with suspected infertility. Sperm characteristics, strict criteria sperm morphology analysis and hypoosmotic swelling test", *J. Reprod. Med.*, **46(6)**, pp.577-582.
- [13] S.K. Luanga, S. Lemeshow, WHO (1991), *Sample size determination in health studies: a practical manual*, 80pp.