

QUY TRÌNH

23.249. XÁC ĐỊNH CÁC YẾU TỐ VI LƯỢNG (ĐỒNG, KẼM)

23.249. QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG TRONG MÁU

I. NGUYÊN LÝ

Phương pháp: phương pháp so màu, đo điểm cuối, đường phản ứng đi lên, Dibromo-PAESA. Bước sóng: 580 nm; Nhiệt độ: 37°C: Tại pH 4.5, nguyên tử đồng được giải phóng ra từ các protein mang và hình thành lên phức hợp Chelate với 4-(3,5-Dibromo-2-pyridylazo)-N-ethyl-N-sulfopropylaniline. Việc tăng khả năng hấp thụ ánh sáng của phức hợp thì tương ứng với nồng độ của tất cả lượng đồng có trong mẫu bệnh phẩm.

II. CHUẨN BỊ

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

2. Phương tiện, hóa chất:

Phương tiện: hệ thống máy sinh hóa Olympus AU640, Beckman Coulter AU680

Thuốc thử sẵn sàng sử dụng, hóa chất chuẩn, huyết thanh kiểm tra chất lượng 2 mức.

Điều kiện bảo quản: hóa chất ổn định ở (2-22°C): tránh ánh sáng, đóng nắp hóa chất ngay sau khi sử dụng. Tránh nhiễm chéo: không sử dụng thuốc thử nếu có đục

- Các loại dung dịch hệ thống khác: Wash solution,...

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:

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống xét nghiệm tiêu chuẩn. 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.

Bảo quản huyết thanh/huyết tương ở 2- 8°C trong vòng 14 ngày, ở -20°C được 45 ngày. Rã đông 1 lần. Để bệnh phẩm, chất chuẩn, QC ở nhiệt độ phòng (20- 25°C) và lắc đều trước khi tiến hành xét nghiệm.

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.

Độ tuyến tính: lên tới 500 µg/dL (78.65 µmol/L). Độ nhạy: giới hạn thấp để phát hiện 3 µg/dL.

IV. NHẬN ĐỊNH KẾT QUẢ

1. Giá trị tham chiếu:

1.1. Nồng độ Cu trong huyết thanh: nồng độ Cu trong huyết thanh người khỏe mạnh bình thường thay đổi theo độ tuổi: khi sinh thấp, tăng dần và sau đó giảm nhẹ về mức tương đối ổn định:

Trẻ em:

< 4 tháng: 8,9-46 µg/dL hay 1,4-7,2µmol/L.

4-6 tháng: 25-108 µg/dL hay 4-17 µmol/L.

7-12 tháng: 51-133 µg/dL hay 8-21 µmol/L.

1-5 tuổi: 83-152 µg/dL hay 13-24 µmol/L.

6-9 tuổi: 83-133 µg/dL hay 13-21 µmol/L.

10-13 tuổi: 83-121 µg/dL hay 13-19 µmol/L.

14-19 tuổi: Nam: 64-114 µg/dL hay 10-18 µmol/L

Nữ: 70-159 µg/dL hay 11-25 µmol/L

Người trưởng thành: Nam: 70-140 µg/dL hay 11-22 µmol/L.

Nữ: 76-152 µg/dL hay 12-24 µmol/L.

1.2. Nồng độ Cu nước tiểu/ 24 h: Mức độ Cu nước tiểu người khỏe mạnh là 10-60 µg/ 24 h.

1.3. Nồng độ ceruloplasmin huyết thanh: ceruloplasmin huyết thanh người khỏe mạnh là:

≤ 5 ngày tuổi: 5-40 mg/dL hay 0,05-0,4 g/L.

≥ 1 tuổi: 20-60 mg/dL hay 0,2-0,6 g/L.

Người trưởng thành: 15-60 mg/dL

2. Ý nghĩa lâm sàng

Đồng là một kim loại vi lượng cần thiết cho cơ thể để gắn vào enzyme. Các enzyme này có vai trò trong điều tiết sự chuyển hóa sắt, hình thành các mô liên kết, sản sinh năng lượng ở mức độ tế bào, sản xuất melanin (sắc tố tạo màu da) và chức năng của hệ thần kinh. Đồng có trong nhiều loại thực phẩm như các loại hạt, sô cô la, nấm, sò, ngũ cốc nguyên hạt, trái cây sấy khô và gan. Uống nước có thể có đồng khi nó chảy qua ống đồng. Thông thường, cơ thể hấp thụ đồng từ thức ăn ở ruột, đồng được gắn với protein trở thành dạng không độc và vận chuyển đến gan. Gan lưu trữ một số đồng và phần lớn còn lại được gắn với một protein khác là apoceruloplasmin để tạo thành enzyme ceruloplasmin. Khoảng 95% của đồng trong máu được gắn vào ceruloplasmin và phần còn lại được gắn với các protein khác như albumin. Chỉ một lượng nhỏ Cu trong máu ở dạng tự do. Đồng tham gia duy trì chức năng bình thường của nhiều enzyme như *cytochrome c oxidase* trong phức hợp IV trong chuỗi vận chuyển điện tử trong ty thể, *ceruloplasmin*, *Cu/Zn superoxide dismutase* và các *amine oxidase*. Các enzyme này xúc tác cho quá trình phosphoryl oxy hóa, vận chuyển sắt, chống oxy hóa, trung hòa các gốc tự do và tổng hợp các chất dẫn truyền thần kinh. Gan đào thải đồng dư thừa theo đường mật, xuống ruột để được đào thải theo đường phân và một phần được bài tiết theo đường nước tiểu. Hai bệnh di truyền liên quan đến rối loạn chuyển hóa Cu được nghiên cứu rộng rãi nhất ở người là bệnh Wilson và bệnh Menkes'.

Chỉ định xét nghiệm Cu và Ceruloplasmin

- Một hoặc nhiều xét nghiệm đồng được chỉ định cùng với ceruloplasmin khi một người nào đó có dấu hiệu và triệu chứng bị nghi có thể là do bệnh Wilson, quá tải đồng hoặc ngộ độc đồng. Những dấu hiệu và triệu chứng quá tải đồng có thể bao gồm:

- + Thiếu máu
- + Buồn nôn, đau bụng
- + Vàng da
- + Mệt mỏi
- + Thay đổi hành vi
- + Bồn chồn (tremors)
- + Khó đi bộ và/ hoặc nuốt
- + Loạn trương lực cơ (dystonia)

- Các xét nghiệm đồng cũng có thể được chỉ định khi một người có dấu hiệu và triệu chứng có thể là do sự thiếu hụt đồng, chẳng hạn như:

- + Có một số bất thường thấp của bạch cầu trung tính, một loại tế bào máu trắng (bạch cầu)
- + Loãng xương
- + Thiếu máu

- + Ít gặp hơn, các triệu chứng thần kinh và làm chậm tăng trưởng ở trẻ em
- Các xét nghiệm đồng còn có thể được chỉ định định kỳ để theo dõi diễn biến của bệnh hoặc hiệu quả điều trị.
- Sinh thiết gan để định lượng đồng trong gan có thể được chỉ định để đánh giá thêm dự trữ đồng khi kết quả về đồng và ceruloplasmin không bình thường hoặc không rõ ràng.
- Xét nghiệm đồng phải được đánh giá trong bệnh cảnh nhất định và thường phải được so sánh với mức độ ceruloplasmin.

Bệnh Wilson:

Wilson là bệnh gây ra do rối loạn di truyền nhiễm sắc thể thường của chuyển hóa đồng được đặc trưng bởi sự lắng đọng quá nhiều đồng trong các mô, chủ yếu là ở gan và não. Bệnh Wilson thường gây tử vong nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời ngay khi xuất hiện triệu chứng.

Trong bệnh Wilson, đồng huyết thanh có thể giảm hoặc bình thường, đồng tự do huyết thanh tăng, ceruloplasmin giảm hoặc bình thường, đồng nước tiểu/ 24 h tăng rất cao, trong khi đồng trong gan có thể tăng ($> 250 \mu\text{g/g}$ trọng lượng gan khô) hoặc bình thường, tùy thuộc vào vị trí sinh thiết.

Khi được điều trị bệnh Wilson với các thuốc tạo phức với đồng (chelators) để làm giảm lượng đồng quá tải trong gan, lượng đồng đào thải trong nước tiểu 24 giờ của người đó có thể cao cho đến khi dự trữ đồng trong cơ thể giảm, mức độ đồng huyết thanh và đồng nước tiểu 24 giờ dần trở về bình thường. Khi được điều trị một bệnh liên quan đến thiếu hụt đồng bằng việc cung cấp đồng qua đường uống hoặc tiêm tĩnh mạch, nếu mức độ đồng huyết thanh tăng dần lên có nghĩa là bệnh nhân có đáp ứng với điều trị.

Ngộ độc đồng:

Trong ngộ độc đồng, đồng huyết thanh thường tăng, đồng tự do trong huyết thanh tăng, ceruloplasmin tăng, đồng trong nước tiểu tăng, trong khi đồng trong gan có thể tăng hoặc bình thường.

Bệnh Menkes:

Hội chứng tóc dị thường Menkes (Menkes kinky hair syndrome), còn gọi là bệnh Menkes, là một bệnh của sự vận chuyển đồng, là một rối loạn di truyền hiếm gặp gây ra sự thiếu hụt đồng. Hội chứng này bị gây nên bởi các đột biến trên gen ATP7A nằm trên nhiễm sắc thể X. Bệnh được truyền từ một gen lặn đột biến liên kết với nhiễm sắc thể X của cha mẹ sang con. Điều này có nghĩa rằng chỉ các bé gái bị kế thừa hai bản sao của gen đột biến mới bị bệnh. Vì nam giới chỉ có một nhiễm sắc thể X nên họ có thể mang gen nếu các đột biến có mặt trên nhiễm sắc thể X. Các đột biến này dẫn đến sự phân phối đồng trong cơ thể không đồng đều, làm cho đồng có thể tích tụ trong các mô ruột và thận, dẫn đến sự thiếu hụt đồng trong các cơ quan khác như não. Các triệu chứng của hội chứng này thường phát triển ở giai đoạn sơ sinh và nhiều trẻ em chết ở độ tuổi trẻ. Các dấu hiệu và triệu chứng bao gồm tóc thưa, màu đỏ hoe, dễ gãy, chậm phát triển, suy giảm hệ thần kinh, yếu cơ và co giật. Tỷ lệ mắc hội chứng này là khoảng 1/ 100.000 trẻ sơ sinh.

Trong bệnh Menkes, tất cả các thông số về chuyển hóa đồng đều giảm: đồng huyết thanh thường giảm, đồng tự do trong huyết thanh giảm, ceruloplasmin giảm, đồng trong nước tiểu giảm và đồng trong gan cũng giảm.

Thiếu hụt đồng: tất cả các thông số về chuyển hóa đồng cũng đều giảm: đồng huyết thanh thường giảm, đồng tự do trong huyết thanh giảm, ceruloplasmin giảm, đồng trong nước tiểu giảm và đồng trong gan cũng giảm.

V. NHỮNG SAI SÓT VÀ XỬ TRÍ

- Không sử dụng mẫu bệnh phẩm bị vỡ hồng cầu, đục do tăng lipid. Các mẫu này là nguyên nhân dẫn đến kết quả XN bị sai lệch.

- Các thuốc như carbamazepin và phenobarbital có thể làm tăng lượng đồng trong máu.

- Nồng độ đồng huyết thanh cũng có thể tăng trong viêm khớp dạng thấp (rheumatoid arthritis), trong một số ung thư và giảm khi hấp thu kém, chẳng hạn như trong bệnh xơ hệ thống (cystic fibrosis); tăng ở những người bị viêm hoặc nhiễm khuẩn, trong thời kỳ thai nghén, khi sử dụng estrogen hoặc thuốc tránh thai.

- Một chế độ ăn uống bình thường có thể đáp ứng yêu cầu về đồng của cơ thể. Vì vậy, việc bổ sung đồng thường không cần thiết.