

Bước đầu khảo sát ảnh hưởng của điều kiện ly tâm đối với kết quả xét nghiệm một số chỉ số sinh hóa

Preliminary investigation of effects of centrifugation condition on several biochemical tests

Đinh Thị Thảo, Nguyễn Viết Tân,
Nguyễn Thị Quỳnh Châm, Ninh Thị Liễu,
Nguyễn Cẩm Thạch

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của thời gian, tốc độ ly tâm trong giai đoạn trước xét nghiệm đến kết quả phân tích các chỉ số glucose, urea, creatinine, triglycerid, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), acid uric, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp trong huyết tương. **Đối tượng và phương pháp:** Gồm 258 mẫu máu toàn phần được chống đông bằng li-heparin (mỗi bệnh nhân lấy 3 ống mẫu) của 86 bệnh nhân đến khám tại Khoa Khám bệnh - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ ngày 15/11/2020 đến ngày 15/02/2021. Mẫu máu của mỗi bệnh nhân được ly tâm ở 3 điều kiện: Ống 1 (3000 vòng/5 phút), ống 2 (3000 vòng/10 phút) và ống 3 (4000 vòng/3 phút). Các mẫu sau ly tâm được phân tích các chỉ số sinh hóa trên máy AU5800 của hãng Beckman Coulter. **Kết quả:** Nồng độ glucose, LDL-cholesterol của các mẫu máu ly tâm 4000 vòng/3 phút so với các mẫu ly tâm 3000 vòng/5 phút và 3000 vòng/10 phút có sự khác biệt ($p < 0,05$), với giá trị nồng độ khác nhau lần lượt là 5,64%, 8,11%, 9,82% và 10,86%. Nồng độ creatinine và cholesterol của mẫu máu ly tâm 3000 vòng/5 phút và 4000 vòng/3 phút có sự khác biệt ($p < 0,05$), với nồng độ thay đổi 3,09% và 3,0%. Không có sự khác biệt kết quả của các chỉ số urea, triglycerid, HDL-cholesterol, AST, ALT, GGT, acid uric, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp giữa 3 điều kiện ly tâm. **Kết luận:** Ly tâm mẫu máu 3000 vòng/5 phút không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm các chỉ số sinh hóa glucose, urea, creatinine, cholesterol, triglyceride, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, AST, ALT, GGT, acid uric, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp trong huyết tương bệnh nhân.

Từ khóa: Hóa sinh, ly tâm, chuẩn bị mẫu.

Summary

Objective: To assess effects of centrifugation time and relative centrifugation force in pre-analytical procedure on results of glucose, urea, creatinine, triglyceride, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl transferase (GGT), acid uric, total bilirubin, direct bilirubin in plasma samples. **Subject and method:** 258 whole blood samples of 86 patients examined at Department of Examination - 108 Military Central Hospital from 15/11/2020 to 15/02/2021 that were collected in lithium heparin tubes (3 tubes per patient). All of whole blood tubes were centrifuged on 3 different conditions, 1st tube (at 3000 revolutions for 5 min), 2nd tube (at 3000 revolutions for 10 min) and 3rd tube (at 4000 revolutions for 3

Ngày nhận bài: 5/3/2021, ngày chấp nhận đăng: 29/4/2021

Người phản hồi: Nguyễn Cẩm Thạch, Email: nguyencamthach1973@gmail.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

min). After that, all of plasma samples were analysed on AU5000 system (Beckman Coulter). *Result:* There were statistical significant differences between the concentrations of glucose, LDL-cholesterol of samples centrifuged at 4000 revolutions for 3 min compared with those of specimens centrifuged at 3000 revolutions for 5 min and 3000 revolutions for 10 min ($p < 0.05$), with different concentration values were 5.64%, 8.11%, 9.82% and 10.86%, respectively. The concentrations of creatinine and cholesterol of specimens centrifuged at 3000g for 5 min and 4000 revolutions for 3 min differed significantly ($p < 0.05$), with the proportion change in concentrations were 3.09% and 3.0%, respectively. The remaining tests (urea, triglyceride, HDL-cholesterol, AST, ALT, GGT, acid uric, total bilirubin, direct bilirubin) had the similar concentrations on all 3 centrifugation conditions. *Conclusion:* Blood samples were centrifuged at 3000 revolutions for 5 min without impacts on the results of glucose, urea, creatinine, cholesterol, triglycerid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, AST, ALT, GGT, acid uric, total bilirubin, direct bilirubin in plasma samples.

Keywords: Biochemistry, centrifugation, specimen preparation.

1. Đặt vấn đề

Rút ngắn thời gian trả kết quả xét nghiệm là một trong các mục tiêu mà các phòng xét nghiệm nói chung và phòng xét nghiệm hóa sinh nói riêng luôn hướng tới. Thời gian từ khi bác sĩ ra chỉ định đến khi kết quả xét nghiệm được trả được chia thành ba giai đoạn: Trước, trong và sau xét nghiệm. Trong đó giai đoạn trước xét nghiệm (lấy mẫu, vận chuyển mẫu, phân loại, ly tâm) là giai đoạn có nhiều khâu có thể cải tiến để rút ngắn thời gian và nâng cao chất lượng xét nghiệm.

Theo khuyến cáo của Tổ chức Y tế Thế giới, trong giai đoạn trước xét nghiệm, mẫu máu toàn phần cần được ly tâm ở 2000 đến 3000 vòng trong 10 đến 15 phút [7]. Tuy nhiên, chưa có sự thống nhất giữa các phòng xét nghiệm trên thế giới về điều kiện ly tâm [1], [2], [4], [5], [6]. Hiện tại, Khoa Sinh hóa Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 đang thực hiện ly tâm mẫu máu toàn phần với tốc độ 3000 vòng/phút trong 10 phút.

Xuất phát từ các lý do trên, nhằm góp phần rút ngắn thời gian trả kết quả trong thực hành xét nghiệm, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *Đánh giá ảnh hưởng của thời gian, tốc độ ly tâm trong giai đoạn trước xét nghiệm đến kết quả phân tích các chỉ số glucose, urea, creatinine, triglycerid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), gamma glutamyl*

transferase (GGT), acid uric, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp trong huyết tương.

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm 268 mẫu máu được chống đông bằng li-heparin của 86 bệnh nhân đến khám và điều trị tại Khoa Khám bệnh - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ ngày 15/11/2020 đến ngày 15/02/2021.

2.2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Tiến cứu mô tả cắt ngang.

Cỡ mẫu: Phương pháp chọn mẫu thuận tiện.

Thu thập mẫu: Theo quy trình lấy mẫu của phòng xét nghiệm ISO 15189:2012.

Phương pháp xét nghiệm: Đo quang.

Tiến hành nghiên cứu: Mỗi bệnh nhân được lấy 3 ống máu (2ml/ống), chống đông bằng lithium heparin. Mỗi ống máu ly tâm ở một điều kiện: Ống 1 (3000 vòng/5 phút), ống 2 (3000 vòng/10 phút), ống 3 (4000 vòng/3 phút) trên máy ly tâm Rotofix 32A (hãng Hettich, Đức) ở nhiệt độ phòng ($21^{\circ}\text{C} - 25^{\circ}\text{C}$). Sau đó, tiến hành phân tích các chỉ số: Glucose, urea, creatinine, cholesterol, triglycerid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, acid uric, AST, ALT, GGT, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp trên hệ thống máy Sinh hóa AU5800 (hãng Beckman Coulter, Mỹ) tại cùng thời điểm, trong cùng điều kiện xét nghiệm.

2.3. Xử lý số liệu

Theo thuật toán thống kê y học (so sánh cặp, của cùng một mẫu so sánh với yêu cầu của nhà sản xuất) trên phần mềm SPSS 20.0.

3. Kết quả

Bảng 1. Kết quả so sánh nồng độ các chỉ số sinh hóa giữa các điều kiện ly tâm

Chỉ số sinh hóa	Nồng độ ở các điều kiện ly tâm ($\bar{X} \pm SD$)			p		
	3000 vòng/ 10 phút ⁽¹⁾	3000 vòng/ 5 phút ⁽²⁾	4000 vòng/ 3 phút ⁽³⁾	p ₁₋₂	p ₁₋₃	p ₂₋₃
Glucose (mmol/l)	5,21 ± 1,42	5,35 ± 1,38	5,67 ± 1,41	0,329	0,004	0,000
Urea (mmol/l)	5,59 ± 3,58	5,56 ± 3,45	5,57 ± 3,56	0,939	0,972	0,760
Creatinine (μmol/l)	70,15 ± 76,05	69,49 ± 69,25	71,71 ± 74,29	0,986	0,865	0,010
Cholesterol (mmol/l)	5,58 ± 1,20	5,66 ± 1,25	5,49 ± 1,22	0,460	0,497	0,000
Triglycerid (mmol/l)	1,94 ± 1,52	2,00 ± 1,60	1,94 ± 1,47	0,861	0,967	0,245
HDL-cholesterol (mmol/l)	1,30 ± 0,39	1,28 ± 0,39	1,27 ± 0,39	0,628	0,324	0,320
LDL-cholesterol (mmol/l)	3,50 ± 0,88	3,46 ± 0,88	3,12 ± 1,21	0,643	0,006	0,003
AST (U/l)	28,44 ± 12,83	29,08 ± 13,61	29,82 ± 13,25	0,671	0,321	0,090
ALT (U/l)	30,00 ± 23,38	31,07 ± 25,08	30,75 ± 24,67	0,646	0,735	0,570
GGT (U/l)	47,15 ± 68,69	47,94 ± 69,55	47,82 ± 70,12	0,870	0,876	0,950
Acid uric (U/l)	317,24 ± 103,35	322,71 ± 97,64	319,38 ± 96,49	0,570	0,766	0,146
Bilirubin toàn phần (μmol/l)	9,90 ± 3,17	9,83 ± 3,39	9,81 ± 3,25	0,958	0,329	0,328
Bilirubin trực tiếp (μmol/l)	1,95 ± 0,99	1,95 ± 1,05	1,99 ± 1,15	0,823	0,675	0,698

Nhận xét: Nồng độ glucose, LDL-cholesterol của các mẫu ly tâm 4000 vòng/3 phút so với các mẫu ly tâm 3000 vòng/5 phút và 3000 vòng/10 phút có sự khác biệt ($p < 0,05$). Nồng độ creatinine và cholesterol của mẫu ly tâm 3000 vòng/5 phút và 4000 vòng/3 phút có sự khác biệt ($p < 0,05$).

Bảng 2. Kết quả đánh giá chênh lệch nồng độ các chỉ số sinh hóa giữa các điều kiện ly tâm mẫu khác nhau so với yêu cầu của nhà sản xuất

Chỉ số sinh hóa	Chênh lệch nồng độ giữa các điều kiện ly tâm (%)			Độ lệch cho phép theo nhà sản xuất
	3000 vòng/10 phút 4000 vòng/3 phút	3000 vòng/10 phút 3000 vòng/5 phút	3000 vòng/5 phút 4000 vòng/3 phút	
Glucose	8,11	2,21	5,64	2,34
Urea	0,36	0,53	0,18	5,57
Creatinine	2,17	0,94	3,09	3,96
Cholesterol	1,61	1,41	3,0	4,1
Triglycerid	0,0	3,0	3,0	9,57
HDL-cholesterol	2,31	1,54	0,78	5,61
LDL-cholesterol	10,86	1,14	9,82	5,46
AST	2,2	2,2	2,48	6,54
ALT	2,44	3,44	1,03	11,48
GGT	1,4	1,65	0,25	11,06
Acid uric	0,67	1,69	1,03	4,87

Bilirubin toàn phần	0,91	0,71	0,2	8,95
Bilirubin trực tiếp	2,01	0,0	2,01	14,2

Nhận xét:

Chênh lệch nồng độ glucose, LDL-cholesterol giữa 3000 vòng/10 phút với 4000 vòng/3 phút, giữa 3000 vòng/5 phút với 4000 vòng/3 phút vượt mức cho phép của nhà sản xuất.

Chênh lệch nồng độ của 13 chỉ số giữa 3000 vòng/10 phút với 3000 vòng/5 phút đều nằm trong giới hạn cho phép.

4. Bàn luận

Chúng tôi tiến hành khảo sát nồng độ 13 chỉ số hóa sinh của cùng mẫu máu được ly tâm ở 3 điều kiện khác nhau: 3000 vòng/5 phút, 3000 vòng/10 phút và 4000 vòng/3 phút. Trong đó ly tâm 3000 vòng/10 phút là điều kiện chuẩn theo hướng dẫn của nhà sản xuất; còn ly tâm 3000 vòng/5 phút và 4000 vòng/3 phút được khảo sát với mục tiêu rút ngắn thời gian của giai đoạn trước xét nghiệm. 86 bệnh nhân được chọn vào nghiên cứu có tuổi trung bình $51 \pm 15,74$ (19 đến 83 tuổi). Các chỉ số hóa sinh ở 3 điều kiện ly tâm được so sánh sự khác biệt nồng độ cũng như độ chênh lệch theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Kết quả ở Bảng 1 và Bảng 2 cho thấy:

Nồng độ glucose của các mẫu máu ly tâm ở 4000 vòng trong 3 phút so với các mẫu ly tâm ở 3000 vòng trong 5 phút và 3000 vòng trong 10 phút với $p < 0,05$ (Bảng 1), độ lệch lần lượt là 5,64%, 8,11% đều lớn hơn mức nhà sản xuất cho phép là 2,34% (Bảng 2).

Nồng độ LDL-cholesterol của các mẫu máu ly tâm ở 4000 vòng trong 3 phút so với các mẫu ly tâm ở 3000 vòng trong 5 phút và 3000 vòng trong 10 phút với $p < 0,05$ (Bảng 1), độ lệch lần lượt là 9,82% và 10,86% đều lớn hơn mức nhà sản xuất cho phép 5,46% (Bảng 2).

Nồng độ creatinine và cholesterol của mẫu máu ly tâm ở 3000 vòng/5 phút và 4000 vòng/3 phút khác nhau có ý nghĩa ($p < 0,05$). Các xét nghiệm còn lại có nồng độ tương đương ở cả 3 điều kiện ly tâm khác nhau. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng có sự tương đồng so với một số nghiên cứu ở nước ngoài.

Foster K và cộng sự đánh giá ảnh hưởng của ly tâm tới các xét nghiệm với điều kiện ly tâm là 4000 vòng/3 phút và 1500 vòng/20 phút. Nhóm nghiên cứu nhận thấy không có sự khác biệt đáng kể về kết quả xét nghiệm giữa các mẫu ly tâm với thời gian khác nhau [2].

Nghiên cứu của Lorne L và cộng sự tiến hành trên các mẫu huyết tương và huyết thanh từ 20 người khỏe mạnh, xác định sự ổn định của các xét nghiệm natri, kali, clorua, canxi toàn phần, glucose, urea, creatinine, sắt, kẽm, photpho, thyroxine (T4), thyroglobulin antibodies (A-Tg), prostate-specific antigen (PSA), troponin, lactate dehydrogenase (LDH), cortisol, ferritin and transferrin. Các mẫu máu ly tâm ở 1600 vòng trong 10 phút và 1900 vòng trong 4 phút. Kết quả xét nghiệm không có sự khác biệt và không bị ảnh hưởng nhiều bởi thời gian ly tâm. Sự khác biệt giữa kết quả các mẫu ly tâm 10 phút so với 4 phút nhỏ hơn 1% (16/20 mẫu) và nhỏ hơn 3% với các mẫu còn lại [5].

Một yếu tố nguy cơ đối với các mẫu huyết tương là hiện tượng vỡ hồng cầu xảy ra khi tăng thời gian hoặc tốc độ ly tâm. Các nghiên cứu trên chỉ tiến hành trên các mẫu máu của các tình nguyện viên khỏe mạnh, vì thế không có hiện tượng tan máu khi tăng thời gian ly tâm. Điều này có thể xảy ra khác với các mẫu máu của bệnh nhân do hồng cầu dễ tổn thương trên nền bệnh lý toàn thân. Bên cạnh đó, nghiên cứu này sử dụng ống lưu mẫu là BD Vacutainer SST II Advance. Loại ống này có thể cho phép ly tâm ở 3000 vòng trong 5 phút và 4000 vòng trong 3 phút, do sử dụng loại gel tách huyết tương cho phép thúc đẩy quá trình lắng của các tế bào máu về phía đáy của ống máu trong suốt quá trình ly tâm; trong khi đó, hiện tượng này bị hạn chế với các loại gel thông thường ở giai đoạn đầu của quá trình ly tâm. Ống lưu mẫu BD giúp tăng tính toàn vẹn của mẫu, giảm biến số trong giai đoạn tiền phân tích, nhưng giá thành cao là một hạn chế để có thể sử dụng rộng rãi cho các phòng xét nghiệm [3].

Kết quả nghiên cứu của Mieke MJF Koenders và cộng sự cũng tương tự khi đánh giá trên các mẫu huyết thanh và huyết tương ly tâm ở 1885 vòng trong 5 và 10 phút. Hầu hết các xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi việc giảm thời gian ly tâm từ 10 phút xuống 5 phút, ngoại trừ các mẫu có nồng độ lipid cao. Ở các mẫu này, nồng độ lipid ở mẫu ly tâm 10 phút thấp hơn 50 - 100% so với mẫu ly tâm trong 5 phút. Nồng độ lipid cao ở các mẫu ly tâm 5 phút có thể lý giải là do thời gian ly tâm như vậy chưa đủ để loại bỏ được hoàn toàn các phân tử chylomicrons [6].

Trong một nghiên cứu khác, các mẫu máu bệnh nhân chống đông bằng lithium heparin (loại ống hiện đang sử dụng phổ biến trong các phòng xét nghiệm sinh hóa), được ly tâm 2180 vòng trong 15 phút và 10 phút so sánh với mẫu ly tâm ở 1870 vòng trong 7 phút, kết quả xét nghiệm tương tự giữa các mẫu ly tâm khác nhau [1].

Lippi G sử dụng các ống máu chống đông bằng lithium heparin được ly tâm trong 2, 5, 10, 15 phút ở 1200 vòng. Nhóm tác giả ghi nhận các kết quả tương đồng ở 7 mẫu trong 13 mẫu nghiên cứu. Trong đó, các xét nghiệm ALT, glucose, kali, urea, creatinine có sự khác biệt đáng kể ở các mẫu ly tâm dưới 5 phút. Tuy vậy, các xét nghiệm canxi toàn phần, glucose, kali và urea không có sự khác biệt khi so sánh kết quả tại thời điểm ly tâm 1 phút và thời điểm 15 phút, với tỷ lệ lần lượt là 1,3%, 5,1%, 1,5% và 3,9% [4].

Như vậy, các nghiên cứu trước đây đều cho thấy, thời gian ly tâm lại là yếu tố quan trọng, có thể gây ra sai khác kết quả một số xét nghiệm. Các tác giả cũng đưa ra khuyến nghị cho các phòng xét nghiệm có thể giảm thời gian ly tâm xuống 5 phút mà không ảnh hưởng nhiều đến độ tin cậy của hầu hết kết quả xét nghiệm. Bên cạnh đó, do thời gian ly tâm theo khuyến nghị trước đây của WHO yêu cầu đối với mẫu huyết tương dài hơn mẫu huyết thanh, việc giảm thời gian ly tâm trở nên khả thi giúp cho các phòng xét nghiệm thuận tiện hơn khi sử dụng mẫu huyết tương để phân tích thay cho mẫu huyết thanh.

Nghiên cứu của chúng tôi có điểm hạn chế là chưa đánh giá được toàn bộ các chỉ số sinh hóa đang thực hiện tại phòng xét nghiệm, mặc dù nhóm nghiên cứu đã cố gắng thu thập mẫu nhưng chưa

hoàn toàn đại diện cho tập hợp bệnh nhân đến khám và điều trị tại bệnh viện do cỡ mẫu nhỏ ($n = 86$). Bên cạnh đó, đây là một nghiên cứu đơn biến nên các vấn đề như kích thước ống mẫu, các yếu tố kỹ thuật của thiết bị ly tâm chưa được đề cập. Như vậy cần có những nghiên cứu quy mô hơn để góp phần giảm thời gian ly tâm, qua đó rút ngắn thời gian trả kết quả cho bệnh nhân.

5. Kết luận

Ly tâm mẫu máu 3000 vòng/5 phút không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm các chỉ số sinh hóa glucose, urea, creatinine, cholesterol, triglycerid, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, AST, ALT, GGT, acid uric, bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp trong huyết tương bệnh nhân.

Tài liệu tham khảo

1. Elisabeth I Minder, Adrian Schibli, Dagmar Mahrer, Predrag Nesic and Kathrin Plüer (2011) *Effects of different centrifugation conditions on clinical chemistry and Immunology test results*. BMC Clinical Pathology 11: 6.
2. Foster K, Datta P, Orswell M et al (2000) *Evaluation of a centrifuge with rapid turnaround time for the preparation of plasma samples for measurement of common STAT markers on the ACS: 180 system*. Clin Lab 46: 157-160.
3. Gabriel Lima-Oliveira, Denis Monneret, Fabrice Guerberd and Gian Cesare Guidi (2018) *Sample management for clinical biochemistry assays: Are serum and plasma interchangeable specimens?* Critical reviews in clinical laboratory sciences 55(7): 480-500.
4. Giuseppe Lippi, Gian Luca Salvagno, Martina Montagnana, Gian Cesare Guidi (2007) *Preparation of a quality sample: Effect of centrifugation time on stat clinical chemistry testing*. Labmedicine 3(3): 172-176.
5. Lorne LH, Melkon DB (2012) *Evaluation of an abbreviated centrifugation protocol for chemistry testing*. Labmedicine 43(3): 78-81.
6. Mieke M J F Koenders, Marco E J F van Hurne, Monique Glasmacher-Van Zijl, Geesje van der Linde and Bert W J J M Westerhuis (2012) *The*

analytic impact of a reduced centrifugation step on chemistry and immunochemistry assays: an evaluation of the modular pre-analytics. Ann Clin Biochem 49: 468-474. DOI: 10.1258/acb.2012.011233.

7. WHO (2002) *Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations.* WHO/DIL/LAB/99.1/Rev2. Geneva: WHO.