

XÁC ĐỊNH BIẾN THIÊN SINH HỌC CỦA MỘT SỐ CHỈ SỐ HÓA SINH MÁU

Phạm Thị Thủy¹, Trần Thị Chi Mai^{2,3}, Phạm Thu Hiền³

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương, ²Trường Đại học Y Hà Nội

³Bệnh viện Nhi Trung Ương

Dữ liệu về biến thiên sinh học có rất nhiều ứng dụng quan trọng trên lâm sàng. Mục tiêu của nghiên cứu này là xác định biến thiên sinh học của một số chỉ số hóa sinh máu: Glucose, Albumin, Creatinin, Cholesterol, ALT và CRP. Huyết tương được thu thập từ 37 người tình nguyện khỏe mạnh mỗi tuần 1 lần, trong vòng 5 tuần. Biến thiên cá thể (CVI), biến thiên quần thể (CVG), chỉ số cá thể (Index of individual – II) và giá trị thay đổi tham chiếu (Reference chance value – RCV) của các chỉ số trên được xác định. Albumin có CVI (3,93%) và CVG (4,02%) thấp nhất trong khi CRP có CVI (55,3%) và CVG (85,5 %) cao nhất. II của tất cả các chỉ số đều nhỏ hơn 1. Albumin có 95%RCV (11,7) thấp nhất, trong khi CRP có 95%RCV cao nhất (156,3). Kết quả của nghiên cứu này đóng góp thêm cho dữ liệu biến thiên sinh học của các chỉ số hoá sinh máu.

Từ khóa: biến thiên sinh học, biến thiên cá thể, biến thiên quần thể, chỉ số cá thể, giá trị thay đổi tham chiếu.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các kết quả xét nghiệm máu bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như biến thiên sinh học, tình trạng bệnh lý và các sai số trước, trong và sau xét nghiệm [1]. Vì vậy để đánh giá chính xác một sự thay đổi theo chiều dọc các kết quả xét nghiệm thu được của bệnh nhân, ngoài các yếu tố đảm bảo chất lượng xét nghiệm thì cần phải xem xét các biến thiên sinh học trong một cá thể (biến thiên cá thể) và giữa các cá thể (biến thiên quần thể). Các biến đổi gây ra bởi các sự khác nhau về trạng thái cân bằng trong cùng một cá thể được gọi là biến thiên sinh học cá thể, trong khi các biến đổi gây ra bởi sự khác nhau về trạng thái cân bằng giữa các cá thể khác nhau được gọi là các biến thiên sinh học

quần thể [1].

Dữ liệu định lượng các thành phần của biến thiên sinh học (Biological variation - BV) được sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau, bao gồm: đánh giá mức độ quan trọng của sự thay đổi giữa các kết quả xét nghiệm liên tiếp của một cá thể thông qua việc tính toán giá trị thay đổi tham chiếu (Reference change value - RCV), xác định mức độ phù hợp của các khoảng tham chiếu, và kết hợp với các dữ liệu về biến thiên kỹ thuật để xây dựng các tiêu chuẩn kỹ thuật cho phòng xét nghiệm [2]. Trên lâm sàng, các thông tin về biến thiên sinh học là nền tảng quan trọng để giải thích các kết quả xét nghiệm và giúp các bác sỹ nâng cao khả năng phát hiện chính xác những thay đổi quan trọng về tình trạng của bệnh nhân thông qua các kết quả xét nghiệm [3].

Dữ liệu về biến thiên sinh học đã được ước tính qua rất nhiều nghiên cứu và ứng dụng rộng rãi trên thế giới từ nhiều năm trước. “Generation

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Thủy,

Trường Đại học Kỹ thuật Y Tế Hải Dương

Email: phamthuydky@gmail.com

Ngày nhận: 20/06/2019

Ngày được chấp nhận: 13/07/2019

and application of data on biological variation in clinical chemistry” của Fraser và Harris năm 1989 là một ấn phẩm mang tính bước ngoặt trong chủ đề này. Sau đó là một loạt các nghiên cứu khác về biến thiên sinh học như: Ricos (1999) [4], Cheuvront S.N và cộng sự (2010) [5], Qi Z và cộng sự (2015) [6]. Ở Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu cụ thể về ước tính dữ liệu biến thiên sinh học (BV), và việc sử dụng dữ liệu về biến thiên sinh học cho những mục đích trên lâm sàng vẫn còn hạn chế. Do vậy đề tài này được tiến hành nhằm mục tiêu: Xác định biến thiên cá thể (Intra-individual coefficient of variation - CVI), biến thiên quần thể (Inter-individual coefficient of variation - CVG), chỉ số cá thể (Index of individuality - II) và giá trị thay đổi tham chiếu (Reference change value - RCV) cho một số chỉ số hoá sinh máu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tối thiểu 10 đối tượng cho mỗi nhóm con được coi là đủ để có được một ước tính biến thiên sinh học tốt [7]. Nghiên cứu đã tuyển chọn được 37 đối tượng, bao gồm 18 đối tượng nam và 19 nữ với độ tuổi từ 21 đến 45 tuổi. Để giảm thiểu tối đa các biến thể tiền phân tích, các tiêu chí loại trừ nghiêm ngặt đã được thiết lập trước khi lựa chọn các đối tượng. Các tiêu chí bao gồm: lối sống lành mạnh, không hút thuốc, không uống rượu, không sử dụng các chất kích thích, không mắc các bệnh nhiễm trùng và không sử dụng thuốc. Các đối tượng đủ tiêu chuẩn được phỏng vấn và yêu cầu trả lời bằng câu hỏi điều tra về tình trạng sức khỏe. Phụ nữ có thai hay các đối tượng có tiền sử ung thư hoặc gia đình có tiền sử ung thư, các đối tượng có các chỉ số phân tích máu như: glucose, lipid, chức năng gan thận có bất thường đều bị loại trừ. Các đối tượng được yêu cầu duy trì thói quen sinh hoạt hàng ngày

của họ trong thời gian nghiên cứu.

2. Phương pháp

Thu thập mẫu

Mẫu máu tĩnh mạch được thu thập vào thời điểm 7 - 8 giờ sáng mỗi ngày, cách nhau một tuần và kéo dài 5 tuần. Thời gian lấy mẫu từ tháng 08/2018 tháng 12/2018. Số lượng mẫu trung bình được thu thập từ mỗi tình nguyện viên là 5 mẫu và tất cả các mẫu được thu thập bởi cùng một nhân viên lấy mẫu. Tại thời điểm lấy mẫu, các đối tượng nhịn ăn ít nhất 12h và được nghỉ ngơi trước khi lấy mẫu. Các mẫu máu tĩnh mạch được đựng trong các ống chứa lithium heparin.

Sau khi thu thập tất cả các mẫu được xử lý theo một trình tự nhất định. Mẫu máu được ly tâm (3000 vòng/phút x 10 phút), tách huyết tương ngay trong 1h đầu và lưu trữ ở - 80°C. Xét nghiệm chỉ được phân tích khi tất cả các mẫu đã được thu thập đủ.

Phân tích mẫu

Các chỉ số Glucose, Albumin, Cholesterol toàn phần, Creatinin, ALT và CRP được phân tích trên hệ thống máy hóa sinh tự động Beckman Coulter AU 5800 tại Khoa Sinh hoá, Bệnh viện Nhi trung ương. Hóa chất sử dụng gồm các kit thử Glucose, Albumin, Creatinin, Cholesterol, ALT và CRP của Beckman Coulter. Chất chuẩn (Calibrator) của hãng Beckman Coulter. QC kiểm tra cho xét nghiệm Glucose, Albumin, Creatinin, Cholesterol, ALT của hãng Randox. QC cho xét nghiệm CRP của hãng Beckman Coulter.

Tại thời điểm phân tích, tất cả các mẫu cùng được rã đông ở nhiệt độ phòng và được đo trên cùng một lô hóa chất. Các mẫu được phân tích lặp lại hai lần và không theo một trình tự cụ thể nào trong các lần lặp lại. Sử dụng vật liệu kiểm tra trong suốt quá trình phân tích và tất cả các mẫu được phân tích bởi cùng một người.

3. Xử lý số liệu

Bước 1: Kiểm tra số lạc

- Kết quả của từng chất phân tích của mỗi đối tượng sẽ được kiểm tra so với các giá trị tham chiếu, nếu kết quả nằm ngoài khoảng đó, sẽ loại trừ tất cả kết quả của chủ thể đó.

- Trung bình và độ lệch chuẩn được tính cho từng chất phân tích, nếu kết quả vượt quá $\pm 2SD$ so với giá trị trung bình thì kết quả mẫu đó không được tính.

- Kiểm tra Cochran được áp dụng cho phương sai của các phép đo trùng lặp và tổng phương sai trong cá thể.

- Tiêu chí Reed được sử dụng để phát hiện số lạc trong các giá trị trung bình của các đối tượng đối với từng chất phân tích.

Bước 2: Kiểm tra tính chất phân bố của số liệu

Thử nghiệm Shapiro - Wilk được áp dụng cho tập hợp các kết quả từ mỗi cá thể và giá trị trung bình nồng độ của tất cả các đối tượng để đánh giá sự phân bố của số liệu.

Bước 3: Phân tích các thành phần phương sai

Hệ số biến thiên phân tích (CVA), biến thiên cá thể (CVI) và biến thiên quần thể (CVG) được tính toán theo phương pháp của Braga hoặc sử dụng một phép phân tích lồng ghép các thành phần phương sai (ANOVA nested) [7].

Bước 4: Tính chỉ số cá thể (II) và giá trị thay đổi tham chiếu (RCV)

$$II = CVI/CVG$$

$$RCV = 2^{1/2} \times Z \times (CVA^2 + CVI^2)^{1/2}$$

Khi xác suất là 90%, 95% và 99% các giá trị của Z tương ứng là: 1,65, 1,96 và 2,58.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ tuyệt đối các quy định về đạo đức trong nghiên cứu Y học. Các đối tượng hoàn toàn tự nguyện tham gia vào nghiên cứu và có quyền rút lui khỏi nghiên cứu

khi không đồng ý tiếp tục tham gia. Các tình nguyện viên sẽ được thông báo về kết quả xét nghiệm máu. Mọi thông tin cá nhân sẽ được đảm bảo bí mật.

III. KẾT QUẢ

Tổng số 185 mẫu huyết tương được thu thập từ 37 tình nguyện viên được sử dụng để phân tích các chỉ số hóa sinh. Mỗi mẫu được phân tích 2 lần, kết quả thu được 370 điểm dữ liệu. Sau khi loại trừ các số lạc từ tập hợp số liệu, các thành phần biến thiên sinh học của glucose được tính toán trên 350 điểm dữ liệu, creatinin là 280 điểm, albumin là 330 điểm, cholesterol là 270 điểm, ALT là 310 điểm và CRP là 220 điểm.

Trong sáu chỉ số hóa sinh huyết tương, hệ số biến thiên phân tích dao động trong khoảng từ 1,3% đến 10,8% trong đó cholesterol là chất có hệ số biến thiên phân tích nhỏ nhất. Ngược lại thì CRP lại có sự biến thiên phân tích rất lớn lên tới 10%.

So sánh sự biến thiên sinh học trong các cá thể của các chất phân tích ta nhận thấy tùy từng chất mà hệ số CVI dao động từ 3,9 đến 55,3%. Trong đó Albumin là chất có sự biến thiên sinh học trong cá thể nhỏ nhất và CRP là chất phân tích có sự biến thiên sinh học trong cá thể lớn nhất lên tới trên 50%. Sự biến thiên sinh học giữa các cá thể cũng có sự khác biệt rất lớn giữa các chất phân tích, trong đó Albumin là chất có hệ số CVG nhỏ nhất (4,016 %) và CRP có hệ số biến thiên sinh học giữa các cá thể là lớn nhất (85,5 %) (Bảng 1).

Bảng 2 cho thấy chỉ số cá thể của cả sáu chỉ số hóa sinh huyết tương đều nhỏ hơn 1. Giá trị RCV được tính toán cụ thể ở các mức xác suất 90%, 95% và 99%. Trong đó RCV của Albumin là thấp nhất trong sáu chỉ số hóa sinh. CRP có giá trị RCV cao nhất.

Bảng 1. CV_A, CV_I và CV_G của các chỉ số hóa sinh huyết tương

Chỉ số	Đơn vị	n	Trung vị	Khoảng	CV _A (%)	CV _I (%)	CV _G (%)	CV _I (%) [6]	CV _G (%) [6]
Glucose	mmol/l	350	5,0	4,0 - 5,99	2,309	4,613	4,773	4,66	5,26
Creatinin	umol/l	280	78,1	57,0 - 105,8	1,793	6,660	14,829	4,28	13,98
Albumin	g/l	330	42,6	34,1 - 49,2	1,617	3,926	4,016	2,5	5,08
Cholesterol	mmol/l	270	3,93	2,67 - 5,20	1,330	10,089	11,972		
ALT	U/l	310	7,9	3,8 - 14,4	8,093	16,371	17,328	3,57	12,56
CRP	mg/dl	220	0,3	0,01 - 2,92	10,813	55,345	85,502		

Bảng 2. Chỉ số cá thể (II) và giá trị thay đổi tham chiếu của các chỉ số hóa sinh huyết tương

Chỉ số	II	RCV (90%)	RCV (95%)	RCV (99%)
Glucose	0,97	12,04	14,30	18,82
Creatinin	0,45	16,09	19,12	25,17
Albumin	0,98	9,91	11,77	15,49
Cholesterol	0,84	23,75	28,21	37,13
ALT	0,94	42,61	50,62	66,63
CRP	0,65	131,59	156,31	205,75

IV. BÀN LUẬN

Sự thay đổi của các kết quả phân tích trong phòng thí nghiệm không chỉ phụ thuộc vào tình trạng bệnh lý, các sai số trước, trong và sau phân tích mà còn phụ thuộc rất lớn vào sự biến thiên sinh học. Sự biến thiên sinh học bao gồm biến thiên cá thể và biến thiên giữa các cá thể hay còn gọi là biến thiên quần thể. Trên lâm sàng các chỉ số hóa sinh huyết tương có vai trò rất quan trọng cho phép chuẩn đoán và giám sát các bệnh lý trong một khoảng thời gian ngắn, do vậy các nghiên cứu về biến thiên sinh học là rất quan trọng cho các phân tích lâm sàng. Sáu chỉ số hóa sinh được chọn trong nghiên cứu này đều là những chỉ số được sử dụng phổ biến trong các phòng xét nghiệm y học.

Dữ liệu về biến thiên sinh học của sáu chỉ số hóa sinh trên trong huyết thanh đã được cập nhật trong ấn bản năm 2014 [8]. Tuy nhiên Miles đã đưa ra gợi ý rằng đôi khi sự khác biệt giữa huyết tương và huyết thanh cũng đủ để đưa ra các quyết định lâm sàng trong những tình huống lâm sàng nhất định nên cần thiết lập một phạm vi tham chiếu riêng cho các chỉ số hóa sinh trong huyết tương [9]. Vì vậy năm 2015, Qi Z đã thực hiện một nghiên cứu về biến thiên sinh học của 13 chỉ số hóa sinh trong huyết tương bao gồm: ALT, Albumin, Bilirubin toàn phần, Bilirubin trực tiếp, Glucose, Ure, Creatinin, Amylase, Lipase, CK, CKMB, CRPhs, pro BNP [6]. Nghiên cứu của chúng tôi bổ sung thêm dữ liệu về biến thiên của 2 chỉ số hóa sinh huyết tương là Cholesterol và CRP.

Cho đến hiện tại có rất nhiều nghiên cứu trên thế giới về biến thiên sinh học, tuy nhiên vẫn chưa có sự thống nhất về cách đánh giá biến thiên sinh học, nghiên cứu của chúng tôi thực hiện theo hướng dẫn mới nhất của Braga và cộng sự năm 2016 [7]. Việc sử dụng bảng câu hỏi về tình trạng sức khỏe để tuyển chọn các tình nguyện viên khỏe mạnh, cũng như việc sử dụng cùng một nhân viên lấy mẫu, lấy mẫu trong các khoảng thời gian cố định và thực hiện kiểm soát chất lượng chặt chẽ đối với các phép phân tích tự động nhằm giảm thiểu tối đa các biến thể tiền phân tích và trong phân tích. Điều đó góp phần giảm thiểu sự ảnh hưởng tới các biến thể sinh học.

Nghiên cứu này cho thấy trong 6 chỉ số hóa sinh huyết tương Albumin có hệ số CV_I và CV_G thấp nhất, và CRP có CV_I và CV_G cao nhất, kết quả này hoàn toàn phù hợp với kết quả nghiên cứu của Qi Z năm 2015 và dữ liệu về biến thiên sinh học được cập nhật trên trang Wesgard năm 2014.

Chỉ số cá thể được sử dụng để đánh giá tính hữu ích của các khoảng tham chiếu dựa trên quần thể bình thường. Khi II lớn hơn 1,4 thì các khoảng tham chiếu mới thực sự hữu dụng, và chúng ta có thể sử dụng các khoảng tham chiếu để phát hiện các giá trị bất thường của một cá thể. Ngược lại khi II nhỏ hơn 0,6 thì khoảng tham chiếu dựa trên quần thể bình thường lúc này sẽ có ít giá trị trong việc phát hiện bất thường ở một cá thể và có thể làm lạc hướng chẩn đoán, thay vào đó việc xét nghiệm liên tiếp chỉ số hoá sinh đó trong một khoảng thời gian sẽ rất có ý nghĩa trong việc theo dõi và tiên lượng bệnh [1]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy cả 6 chỉ số hóa sinh huyết tương: Glucose, Creatinin, Albumin, Cholesterol, ALT và CRP đều có chỉ số cá thể nhỏ hơn 1,0. Điều đó chỉ ra rằng các khoảng tham chiếu thông thường của các chỉ số này sẽ

không phù hợp để xác định liệu những thay đổi tương ứng trong các giá trị phát hiện là thực sự có ý nghĩa lâm sàng hay không.

RCV được sử dụng để xác định liệu sự khác biệt (tăng hay giảm) giữa hai kết quả phát hiện liên tiếp của một chỉ số là đáng kể và có thể được sử dụng để tiên lượng bệnh hay đánh giá hiệu quả điều trị. Nếu giá trị biến đổi được tính giữa hai kết quả liên tiếp nằm trong khoảng RCV, biến đổi có thể do biến thiên phân tích và biến thiên cá thể, và được xem là không đáng kể. Sau khi loại bỏ các lỗi phân tích như lỗi phát hiện mẫu và lỗi của thiết bị và nếu các giá trị biến thiên nằm ngoài phạm vi RCV, sự thay đổi có thể là do tiến triển nặng hoặc tốt hơn của bệnh [1]. Albumin thể hiện RCV thấp nhất, trong khi CRP có RCV cao nhất. Điều này do CV_I và CVA của Albumin nhỏ thì RCV nhỏ hơn, trong khi CV_I và CVA của CRP cao hơn dẫn đến một RCV lớn hơn. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Zi Q năm 2015 [6]. Thực tế trên lâm sàng hiện nay việc sử dụng giá trị thay đổi tham chiếu RCV để đánh giá sự thay đổi và tiến triển của bệnh vẫn còn hạn chế, thay vào đó các bác sĩ phần lớn dựa trên kinh nghiệm cá nhân. Farser và cộng sự khuyến nghị về việc nên tập huấn cho các bác sĩ về những gì tạo nên một sự thay đổi đáng kể và ý nghĩa của việc sử dụng RCV trên lâm sàng [10].

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi cung cấp thêm vào cơ sở dữ liệu biến đổi sinh học cho các chỉ số hóa sinh huyết tương. Đối với các chỉ số hóa sinh huyết tương đã có dữ liệu sẵn có chúng tôi nhận thấy sự tương đồng giữa nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu trước đó. Thông tin cung cấp từ các dữ liệu về biến thiên sinh học không chỉ là nền tảng để phân tích, diễn giải kết quả xét nghiệm mà còn là cơ sở khoa học để đưa ra các quyết định trên lâm sàng.

Lời cảm ơn

Các tác giả xin cảm ơn Khoa Kỹ thuật Y học-Trường Đại học Y Hà Nội cùng Khoa Sinh hóa-Bệnh viện Nhi Trung ương đã hỗ trợ để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fraser C.G (2001)**. Biological Variation: From Principles to Practice. *Amer Assoc for Clinacal Chemistry*, Washington.

2. **Fraser C.G, Harris E.K (1989)**. Generation and application of data on biological variation inclinical chemistry. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci*, **27(5)**, 409–437.

3. **Aarsand A.K, Roraas T, Sandberg S (2015)**. Biological variation - reliable data is essential. *Clin Chem Lab Med*, **53(2)**, 153-154.

4. **Ricós C, Álvarez V, Cava F, et al (1999)**. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*, **59(7)**, 491–500.

5. **Cheuvront S.N, Ely B.R, Kenefick RW et al (2010)**. Biology variation and diagnostic

accuracy of dehydration assessment markers. *Am J Clin Nutr*, **92(3)**, 565- 573.

6. **Qi Z, ChenY, Zhang L, et al (2016)**. Biology variation of thirteen plasma biochemical indicator. *Clinica Chimica Acta*, **452**, 87-91.

7. **Braga F, Panteghini M (2016)**. Generation of data on within- subject biological variation in laboratory medicine: An update. *Crit Rev Clin Lab Sci*, **53(5)**, 313- 325

8. **Ricós C, Alvarez V, Cava F, et al (2009)**. Desirable quality specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biologic variation. See [http:// www.westgard.com/biodatabase1.htm](http://www.westgard.com/biodatabase1.htm) (last checked 6 January 2009)

9. **Miles R.R, Roberts R.F, Putnam A.R, et al (2004)**. Comparison of serum and heparinized plasma sample for measurement of chemistry analyte. *Clin Chem*, **50**, 1704- 1706.

10. **Fraser C.G, Cummings S.T, Wilkinson S.P, et al (1989)**. Biological variability of 26 clinicalchemistryanalytesin elderly people. *Clin Chem*, **35(5)**, 783-786.

Summary

BIOLOGICAL VARIATIONS OF SOME BLOOD BIOCHEMICAL INDICATORS

Biological variation data have many applications in clinical laboratory. The aim of this study was to evaluate biological variations of 6 plasma biochemical indicators: glucose, albumin, creatinine, cholesterol, ALT and CRP. Plasma samples were collected from 37 healthy volunteers over 5 weeks. Intra-individual coefficient of variance (CVI), inter-individual coefficient of variance(CVG), index of individual (II) và and reference chance value (RCV) were calculated. Albumin showed the lowest CVI (3,93%) and CVG (4,02%), while CRP presented the highest CVI (55,3%) and CVG (85,5 %). Values were all less than 1. Albumin showed the lowest 95% RCV (11,7), while CRP presented the highest 95% RCV (156,3). Our findings not only add value to the database of biological variations of plasma indicators but also provided additional information for accurate clinical diagnosis and treatment.

Keywords: biological variation, Intra-individual coefficient of variance (CVI), inter-individual coefficient of variance (CVG), index of individual (II), reference chance value (RCV)