DOI: 10.48305/jims.v41.i729.0624

مجله دانشکده پزشکی اصفهان — سال چهل و یکم/شماره‌ی ۷۲۹/هفته‌ی اول مهر ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۸ — تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۱۸ — تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۷/۷

تأثیر تاخیر در جداسازی سرم بر نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی

مسعود مرعشی‌فرد[۱]، حسین وکیل‌پور[۲]، زهرا صیادی[۳]، حسین صادقی[۴]، اکبر فاطمی[۵]، خداکرم جهان‌بین[۶]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تأثیر تأخیر در جداسازی سرم بر نتایج برخی آزمایش‌های بیوشیمیایی، به عنوان یکی از خطاهای پیش آنالیتیکی انجام پذیرفته است.

روش‌ها: در این مطالعه، ۵۰ داوطلب سالم شرکت کردند. ۱۲ میلی‌لیتر خون از هر فرد گرفته و در ۶ لوله‌ی اختصاص داده شده تقسیم شد. به منظور جداسازی سرم، یکی از نمونه‌های هر فرد به عنوان نمونه‌ی مبنا در زمان استاندارد (یک ساعت پس از خون‌گیری) سانتریفیوژ گردید و نمونه‌های دیگر همان فرد با تأخیر ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ ساعت نسبت به نمونه‌ی مبنا سانتریفیوژ شدند. سرم هر یک از نمونه‌ها از نظر ۲۱ آنالیت مختلف شامل قند خون (Blood sugar) BS، نیتروژن اوره‌ی خون (Blood urea nitrogen) BUN، اوریک اسید (Uric acid) U.A، کلسیم (Calcium) Ca، منیزیم (Magnesium) Mg، تری‌گلیسیرید (Triglyceride) TG، کلسترول (Cholesterol) Chol، لیپوپروتئین پرچگال (High-density lipoprotein) HDL، آسپارتات ترانس آمیناز (Aspartate transaminase) AST، آلانین ترانس آمیناز (Alanine transaminase) ALT، آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphatase) ALP، بیلی‌روبین تام (Total bilirubin) T.B، بیلی‌روبین مستقیم (Direct bilirubin) D.B، آلبومین (Albumin) Alb، پروتئین تام (Total protein) T.P، آمیلاز (Amylase) Amy، لیپاز (Lipase) Lip، لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase) LDH و کراتین فسفوکیناز (Creatine phosphokinase) CPK مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: بین میانگین‌های قند خون (BS) در زمان‌های سپری شده از زمان خون‌گیری، تفاوت معنی‌داری یافت شد. میانگین‌های BS به طور متوسط به ازای هر ساعت تأخیر در جداسازی سرم ۴/۷۸ درصد کاهش نشان داد. در مورد سایر آنالیت‌ها تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌های آن‌ها در هر یک از نقاط زمانی سپری شده از زمان خونگیری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به اثر قابل توجه تأخیر در جداسازی سرم بر آزمایش BS، لازم است نمونه‌ی خون کامل در اسرع وقت سانتریفیوژ و سرم آن جدا شود. در مورد سایر آنالیت‌های مورد بررسی، تأخیر در جداسازی سرم تا ۶ ساعت، تأثیر قابل توجهی بر نتایج نداشت.

واژگان کلیدی: علوم آزمایشگاهی بالینی؛ مرحله‌ی پیش آنالیتیکی؛ آنالیز شیمیایی خون؛ خطاهای پزشکی؛ سانتریفیوژ

ارجاع: مرعشی‌فرد مسعود، وکیل‌پور حسین، صیادی زهرا، صادقی حسین، فاطمی اکبر، جهان‌بین خداکرم. **تأثیر تاخیر در جداسازی سرم بر نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۲؛ ۴۱ (۷۲۹): ۶۳۰-۶۲۴

مقدمه

در عصر حاضر، عمده‌ی تصمیمات درمانی مبتنی بر نتایج آزمایشگاهی هستند و عدم اطلاع از تأثیر عوامل مختلف از جمله خطاهای آزمایشگاهی بر نتایج، می‌تواند منجر به تحمیل هزینه‌های اضافه‌ی قابل توجه، بر بیماران و بر کادر درمان گردد (۱). خطاهای آزمایشگاهی که در یک تقسیم‌بندی کلی به سه دسته‌ی پیش آنالیتیکی (از جمله نمونه‌گیری اشتباه و آماده‌سازی نادرست نمونه جهت آنالیز)، آنالیتیکی (مانند درست کار نکردن دستگاه در حین آنالیز) و پسا آنالیتیکی (مانند اشتباه وارد کردن نتایج) تقسیم می‌شوند، چالش‌های بزرگی در کیفیت آزمایش‌های تشخیصی ایجاد کرده‌اند و

۱- کارشناس علوم آزمایشگاهی، مدیریت درمان سازمان تأمین اجتماعی استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ایران
۲- کارشناس ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
۳- کارشناس ارشد ویروس‌شناسی پزشکی، مدیریت درمان سازمان تأمین اجتماعی استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ایران
۴- استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
۵- کارشناس علوم آزمایشگاهی، مدیریت درمان سازمان تأمین اجتماعی استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ایران
۶- کارشناس ارشد ایمنی شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی قانونی، سازمان پزشکی قانونی کشور، یاسوج، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: مسعود مرعشی‌فرد: کارشناس علوم آزمایشگاهی، مدیریت درمان سازمان تأمین اجتماعی استان کهگیلویه و بویراحمد، یاسوج، ایران
Email: masoud.marashifard@gmail.com

در بعضی مواقع خطرات جدی برای ایمنی بیمار بـه دنبـال داشـته‌انـد (۲). شواهد نشان می‌دهد که اکثر خطاهای آزمایشگاهی مربوط به مرحله‌ی پیش آنالیتیکی و به خصوص به کارگیری روش‌ها و تدابیر نادرست و نامناسب در فرایند جمع‌آوری، انتقال و آماده‌سازی نمونه جهت آنـالیز می‌باشد (۳).

در بین فعالیت‌های مختلفـی کـه در مسـیر مـدیریت نمونـه‌هـای بیولوژیکی جهـت انجـام تسـت‌هـای آزمایشـگاهی و بـه طـور ویـژه تست‌های بیوشیمیایی انجام می‌پذیرد، سانتریفیوژ نمونه‌ی خون کامـل برای جداسازی سرم یا پلاسما، یکی از گام‌های اساسی می‌باشـد (٤). طبق دستورالعمل‌های استاندارد، سرم یا پلاسما باید هرچه سریع‌تـر و حداکثر تا ۲ ساعت پس از نمونه‌گیری از نمونـه‌ی خـون کامـل جـدا گردند. در موارد زیادی به خصوص در مورد نمونه‌های خون ارسـالی از مراکـز بهداشـتی دورافتـاده و یـا بخـش‌هـای مختلـف درون یـک بیمارستان مشاهده می‌گردد که نمونه‌ها بـا فاصـله‌ی زمـانی زیـادی از خون‌گیری به آزمایشگاه ارسال شده و در نتیجه فراینـد سـانتریفیوژ و جداسازی سرم یا پلاسما با تأخیر زیادی انجام می‌پذیرد (۵).

اگرچه تأثیر تأخیر در جداسازی سرم یا پلاسما از نمونـه‌ی خـون کامل در مورد برخی آزمایش‌های بیوشیمیایی تا حدودی مورد مطالعـه قرار گرفته است، اما همچنـان نقـاط مـبهم زیـادی بـرای کارشناسـان آزمایشگاه‌ها و سایر کادر درمان در گزارش و تفسیر نتایج نمونه‌هـایی که جداسازی سرم آن‌ها همراه با تأخیر زمانی انجام می‌گـردد، وجـود دارد. در اغلب مطالعات قبلی، فواصل زمانی مورد بررسی منظم نبـوده و تأثیر ساعت به ساعت تأخیر در سانتریفیوژ آورده نشده است (٤-۸). در ایران با توجه به اینکه اکثر شیفت‌های کاری در آزمایشگاه‌هـا حـداقل ٦ ساعته هستند، اطلاع کارشناسان آزمایشـگاه از نحـوه‌ی مواجهـه بـا نتایج نمونه‌هایی که با تأخیر زمانی ۱ تا ٦ ساعت، جداسازی سرم آن‌ها انجام می‌گردد، ضروری به نظر می‌رسـد. لـذا مطالعـه‌ی حاضـر بـا هـدف ارزیابی اثرات احتمالی تـأخیر در جداسـازی سـرم بـر روی نتـایج برخـی تست‌های بیوشیمیایی معمول، انجام گرفته است.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی توصـیفی- تحلیلـی، کـه بـا رعایـت اصـول بیانیـه‌ی هلسینکی (۲۰۰۸) و ضـوابط اخـلاق پزشـکی در بیمارسـتان شـهدای گمنام شهر یاسوج در سال ۱٤۰۱ انجام گرفت، ۵۰ داوطلب سـالم بـا رضایت آگاهانه شرکت نمودند. از هر فرد، ۱۲ میلی‌لیتر خون وریـدی گرفته شد و سپس این نمونه، در ٦ لوله‌ی گرانـول‌دار اختصـاص داده شده برای هر فرد، که با شماره‌های ۰ تا ۵ شماره‌گذاری شـده بودنـد، به مقدار مساوی (هر لوله ۲ میلی‌لیتر) تقسیم گردید و در دمـای اتـاق نگه‌داری شد. به منظور جداسازی سرم، لوله‌ی شماره‌ی صـفر مربـوط به هر فرد، به عنوان نمونه‌ی مبنـا، یـک سـاعت پـس از نمونـه‌گیـری سانتریفیوژ شد (۵ دقیقه، RCF ۱٤٦۰) و لوله‌های شماره‌ی ۱ تا ۵ هر فرد، به ترتیب با ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ ساعت تأخیر نسبت به نمونـه‌ی مبنـا سانتریفیوژ گردیدند (۵ دقیقه، RCF ۱٤٦۰). سرم‌ها بلافاصـله بعـد از جداسـازی بـا اسـتفاده از دسـتگاه اتوآنـالایزر (CS-400، DIROII، چین) مورد آنالیز بیوشیمیایی قرار گرفتند. آنالیت‌هـای مـورد بررسـی شـامل قنـد خـون (Blood sugar) BS، نیتـروژن اوره‌ی خـون (Blood urea nitrogen) BUN، اوریـک اسـید (Uric acid) U.A، کلسیم (Calcium) Ca، منیزیم (Magnesium) Mg، تری‌گلیسـرید (Triglyceride) TG، کلسترول (Cholesterol) Chol، لیپـوپروتئین پرچگـال (High-density lipoprotein) HDL، آسـپارتات تـرانس آمینـاز (Aspartate transaminase) AST، آلانـین تـرانس آمینـاز (Alanine transaminase) ALT، آلکـالین فسـفاتاز (Alkaline phosphatase) ALP، بیلـی‌روبـین تـام (Total bilirubin) T.B، بیلـی‌روبـین مسـتقیم (Direct bilirubin) D.B، آلبومین (Albumin) Alb، پروتئین تام (Total protein) T.P، آمیلاز (Amylase) Amy، لیپاز (Lipase) Lip، لاکتات دهیـدروژناز (Lactate dehydrogenase) LDH و کـراتین فسـفوکیناز (Creatine phosphokinase) CPK بودنـد. پـس از ثبـت نتـایج مربوطه به تمام نمونه‌ها، با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY)، میانگین نتایج نمونه‌های مربوط به هر زمان محاسبه و از آزمون تحلیل واریانس یک راهه (ANOVA) برای تأیید وجود یا عـدم وجـود تفـاوت معنـی‌دار بین میانگین‌های آنالیـت‌هـای مـورد بررسـی در زمـان‌هـای مختلـف استفاده گردید.

ایـن مطالعـه بـا کـد اخـلاق بـه شـماره‌ی IR.YUMS.REC.1401.133 از دانشـگاه علـوم پزشـکی یاسـوج تصویب شده است.

یافته‌ها

همان گونه که در جدول ۱ مشاهده می شود، تنهـا بـین میـانگین هـای مقادیر BS در نقاط زمانی مختلف بر مبنای تأخیر در جداسازی سـرم، تفاوت معنـی‌داری یافـت شـد ($P < ۰/۰۵$). تفـاوت معنـی‌داری بـین میانگین‌های مقادیر سایر آنالیت‌ها در نقاط زمانی مختلـف جداسـازی سـرم مشـاهده نگردیـد ($P \geq ۰/۰۵$). حاصـل میـانگین مقـادیر BS نمونه‌های ۵۰ فرد مـورد مطالعـه در زمـان مبنـای جـدا سـازی سـرم، ۱۰۱/۸۹ به دست آمد، در حالی که این میانگین بـرای نمونـه‌هـای بـا ۱ ساعت تأخیر در جداسازی سرم ۹۵/۵۷ (٦/۲ درصد کاهش نسـبت بـه نمونـه‌ی مبنـا)، بـرای نمونـه‌هـای بـا ۲ سـاعت تـأخیر ۹۰/۲٦

(۵/۲۱ درصد کاهش نسبت به نمونه‌های با ۱ ساعت تأخیر)، برای نمونه‌های با ۳ ساعت تأخیر ۸۵/۲۱ (٤/٩٦ درصد کاهش نسبت به نمونه‌های با ۲ ساعت تأخیر)، برای نمونه‌های با ٤ ساعت تأخیر ۸۰/٦٨ (٤/٤٥ درصد کاهش نسبت به نمونه‌های با ۳ ساعت تأخیر) و برای نمونه‌های با ۵ ساعت تأخیر ۷۷/۵۲ (۳/۱ درصد کاهش نسبت به نمونه‌های با ٤ ساعت تأخیر) به دست آمد که نشان می‌دهد میانگین‌های مقادیر BS از حالت مبنا تا تأخیر ۵ ساعته در جداسازی سرم، پیوسته رو به کاهش بوده‌اند. به طور متوسط، میانگین مقادیر BS به ازای هر ساعت تأخیر در جداسازی سرم ٤/٧٨ درصد کاهش نشان داده است. از نگاهی دیگر، میانگین BS در حالت‌های تأخیر ۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ ساعته به ترتیب ٦/٢، ۱۱/٤۱، ۱٦/۳۷، ۲۰/۸۲ و ۲۳/ ۹۲ درصد نسبت به حالت مبنا کاهش داشته است. درصدهای تغییرات میانگین سایر آنالیت‌ها در نقاط زمانی مختلف تأخیر در جداسازی سرم نسبت به حالت مبنا نیز در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱. تغییرات میزان آنالیت‌ها در نقاط زمانی مختلف بر مبنای تأخیر در جداسازی سرم

میزان تأخیر در سانتریفیوژ	حالت مبنا	تأخیر ۱ ساعته	تأخیر ۲ ساعته	تأخیر ۳ ساعته	تأخیر ٤ ساعته	تأخیر ۵ ساعته	F	P
انحراف معیار ± میانگین BS (mg/dL)	۱۰۱/۸۹ ± ۱۷/۹۸	۹۵/۵۷ ± ۱۷/۲۶	۹۰/۲۶ ± ۱۷/۶۹	۸۵/۲۱ ± ۱۶/۵۵	۸۰/۶۸ ± ۱۵/۹۸	۷۷/۵۲ ± ۱۶/۶۹	۵/۵۶	۰
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		-۶/۲۰	-۱۱/۴۱	-۱۶/۳۷	-۲۰/۸۲	-۲۳/۹۲		
انحراف معیار ± میانگین BUN (mg/dL)	۱۲/۴۱ ± ۳/۳۲	۱۲/۲۴ ± ۳/۰۱	۱۲/۲۰ ± ۳/۰۱	۱۲/۳۵ ± ۳/۴۶	۱۲/۶۰ ± ۳/۲۱	۱۲/۲۸ ± ۲/۸۳	۰/۰۴	۰/۹۹۹
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		-۱/۳۷	-۱/۶۹	-۰/۴۸	۱/۵۳	-۱/۰۵		
انحراف معیار ± میانگین Cr (mg/dL)	۱/۰۲ ± ۰/۱۴	۱/۰۲ ± ۰/۱۵	۰/۹۸ ± ۰/۱۶	۱/۰۰ ± ۰/۱۴	۰/۹۹ ± ۰/۱۳	۰/۹۹ ± ۰/۱۵	۰/۲۳۷	۰/۹۴۵
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۰۰	-۳/۹۲	-۱/۹۶	-۲/۹۴	-۲/۹۴		
انحراف معیار ± میانگین U.A (mg/dL)	۴/۷۲ ± ۱/۴۸	۴/۷۵ ± ۱/۴۷	۴/۷۸ ± ۱/۴۴	۴/۹۴ ± ۱/۵۰	۴/۸۰ ± ۱/۴۱	۴/۸۲ ± ۱/۴۳	۰/۰۴۴	۰/۹۹۹
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۶۴	۱/۲۷	۴/۶۶	۱/۶۹	۲/۱۲		
انحراف معیار ± میانگین Ca (mg/dL)	۹/۶۴ ± ۰/۴۶	۹/۷۱ ± ۰/۴۴	۹/۶۴ ± ۰/۳۸	۹/۴۸ ± ۰/۴۵	۹/۵۶ ± ۰/۴۳	۹/۵۰ ± ۰/۴۹	۰/۵۹۵	۰/۷۰۴
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۷۳	۰/۰۰	-۱/۶۶	-۰/۸۳	-۱/۴۵		
انحراف معیار ± میانگین Mg (mg/dL)	۲/۲۶ ± ۰/۰۸	۲/۲۶ ± ۰/۱۰	۲/۳۲ ± ۰/۰۸	۲/۲۹ ± ۰/۱۰	۲/۳۰ ± ۰/۰۸	۲/۳۰ ± ۰/۰۷	۰/۰۱	۱
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۰۰	۲/۶۵	۱/۳۳	۱/۷۷	۱/۷۷		
انحراف معیار ± میانگین Tg (mg/dL)	۱۷۴/۰۰ ± ۶۹/۹۹	۱۷۴/۸۰ ± ۷۰/۲	۱۷۳/۵۷ ± ۶۹/۰۵	۱۷۴/۵۳ ± ۶۸/۳۸	۱۷۳/۰۰ ± ۶۹/۷۰	۱۷۳/۳۷ ± ۶۷/۸۲	۰	۱
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۷۹	-۰/۵۵	-۰/۴۰	۰/۰۴	-۰/۸۳		
انحراف معیار ± میانگین Chol (mg/dL)	۱۴۸/۱۵ ± ۲۶/۷۷	۱۴۸/۸۹ ± ۲۵/۸۳	۱۴۸/۵۷ ± ۲۶/۵۳	۱۴۹/۸۴ ± ۲۷/۴۱	۱۴۹/۱۰ ± ۲۶/۳۲	۱۴۸/۲۱ ± ۲۶/۱۷	۰/۰۱۱	۱
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۵۰	۰/۲۸	۱/۱۴	۰/۶۴	۰/۰۴		
انحراف معیار ± میانگین HDL (mg/dL)	۳۹/۴۶ ± ۶/۴۷	۳۹/۷۱ ± ۷/۱۹	۳۸/۰۶ ± ۶/۸۸	۳۸/۶۶ ± ۵/۴۵	۳۷/۵۴ ± ۸/۵۱	۳۹/۰۰ ± ۹/۲۵	۰/۱۷۴	۰/۹۷۲
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		۰/۶۳	-۳/۵۵	-۲/۰۳	-۴/۸۷	-۱/۱۷		
انحراف معیار ± میانگین AST (U/L)	۲۳/۱۳ ± ۹/۲۳	۲۲/۸۶ ± ۸/۸۱	۲۲/۹۳ ± ۹/۰۲	۲۲/۸۶ ± ۸/۹۲	۲۳/۲۰ ± ۸/۹۴	۲۳/۰۰ ± ۹/۰۰	۰/۰۰۴	۱
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		-۱/۱۷	-۰/۸۶	-۱/۱۷	۰/۳۰	-۰/۵۶		
انحراف معیار ± میانگین ALT (U/L)	۲۸/۷۳ ± ۱۶/۲۴	۲۸/۰۶ ± ۱۶/۰۷	۲۷/۸۰ ± ۱۵/۷۳	۲۷/۶۶ ± ۱۵/۶۵	۲۷/۶۶ ± ۱۵/۵۱	۲۷/۶۰ ± ۱۵/۵۳	۰/۰۱۲	۱
درصد تغیر نسبت به حالت مبنا		-۲/۳۳	-۳/۲۴	-۳/۲۷	-۴/۱۸	-۳/۹۳		

ادامه جدول ۱. تغییرات میزان آنالیت‌ها در نقاط زمانی مختلف بر مبنای تأخیر در جداسازی سرم

میزان تأخیر در سانتریفیوژ	حالت مبنا	تأخیر ۱ ساعته	تأخیر ۲ ساعته	تأخیر ۳ ساعته	تأخیر ٤ ساعته	تأخیر ٥ ساعته	F	P
انحراف معیار ± میانگین	۱۶۸/۸۰ ± ۴۰/۴۷	۱۶۹/۹۳ ± ۳۹/۳۰	۱۷۰/۰۰ ± ۳۹/۷۰	۱۶۹/۶۰ ± ۳۸/۷۹	۱۷۰/۰۰ ± ۳۹/۶	۱۶۸/۵۰ ± ۳۸/۲۲	۰/۰۰۴	۱
ALP (U/L)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۰/۶۷	۰/۷۱	۰/۴۷	۰/۷۱	−۰/۱۸		
انحراف معیار ± میانگین	۰/۷۵ ± ۰/۴۲	۰/۷۶ ± ۰/۴۰	۰/۷۶ ± ۰/۴۰	۰/۷۵ ± ۰/۴۱	۰/۷۵ ± ۰/۴۱	۰/۷۶ ± ۰/۴۰	۰/۰۰۱	۱
T.B (mg/dL)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۱/۳۳	۱/۳۳	۰/۰۰	۰/۰۰	۱/۳۳		
انحراف معیار ± میانگین	۰/۳۷ ± ۰/۱۹	۰/۳۷ ± ۰/۱۸	۰/۳۷ ± ۰/۱۹	۰/۳۷ ± ۰/۱۹	۰/۳۶ ± ۰/۱۹	۰/۳۶ ± ۰/۱۹	۰/۰۰۸	۱
D.B (mg/dL)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۰/۰۰	۰/۰۰	۰/۰۰	−۲/۷۰	−۲/۷۰		
انحراف معیار ± میانگین	۴/۱۶ ± ۰/۱۸	۴/۱۷ ± ۰/۱۹	۴/۱۸ ± ۰/۱۸	۴/۱۴ ± ۰/۱۸	۴/۱۶ ± ۰/۱۸	۴/۱۳ ± ۰/۱۷	۰/۱۴۹	۰/۹۸۰
Alb (g/dL)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۰/۲۴	۰/۴۸	−۰/۴۸	۰/۰۰	−۰/۷۲		
انحراف معیار ± میانگین	۶/۸۹ ± ۰/۵۰	۶/۹۴ ± ۰/۵۱	۶/۹۶ ± ۰/۴۹	۶/۹۶ ± ۰/۵۰	۶/۹۶ ± ۰/۴۸	۶/۹۲ ± ۰/۵۱	۰/۰۴۳	۰/۹۹۹
T.P (g/dL)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۰/۷۳	۱/۰۲	۱/۰۲	۱/۰۲	۰/۴۴		
انحراف معیار ± میانگین	۲۶۷/۲۰ ± ۲۸/۲۶	۲۷۱/۴۰ ± ۲۹/۴۱	۲۷۶/۱۳ ± ۳۰/۵۹	۲۷۷/۵۰ ± ۳۰/۵۰	۲۸۴/۱۳ ± ۳۳/۰۲	۲۸۴/۶۰ ± ۳۱/۵۰	۰/۷۵۹	۰/۵۸۲
LDH (U/L)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۱/۵۷	۳/۳۴	۳/۸۵	۶/۳۴	۶/۵۱		
انحراف معیار ± میانگین	۶۸/۲۰ ± ۲۴/۹۰	۶۸/۲۰ ± ۲۵/۲۸	۷۰/۰۷ ± ۲۵/۴۹	۶۷/۹۳ ± ۲۴/۷۳	۶۶/۶۰ ± ۲۴/۶۰	۶۶/۳۳ ± ۲۴/۰۸	۰/۰۴۴	۰/۹۹۹
Amy (U/L)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۰/۰۰	۲/۷۴	−۰/۴۰	−۲/۳۵	−۲/۷۴		
انحراف معیار ± میانگین	۲۱/۳۳ ± ۱۰/۸۸	۲۱/۹۳ ± ۱۰/۹۴	۲۱/۰۰ ± ۹/۵۵	۲۱/۷۳ ± ۱۱/۴۷	۲۱/۲۷ ± ۹/۵۰	۲۱/۵۳ ± ۱۰/۴۳	۰/۰۱۶	۱
Lip (U/L)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۲/۸۱	−۱/۵۵	−۱/۸۸	−۰/۲۸	۰/۹۴		
انحراف معیار ± میانگین	۱۱۵/۸۰ ± ۴۵/۵۳	۱۱۵/۳۳ ± ۴۴/۵۸	۱۱۴/۸۰ ± ۴۴/۷۲	۱۱۳/۴۰ ± ۴۳/۶۴	۱۱۳/۵۰ ± ۴۴/۲۶	۱۱۳/۷۰ ± ۴۳/۶۱	۰/۰۰۸	۱
CPK (U/L)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		−۰/۴۱	−۰/۸۶	−۲/۰۷	−۱/۹۹	−۱/۸۱		
انحراف معیار ± میانگین	۸۳/۲۰ ± ۲۵/۹۸	۸۴/۲۷ ± ۲۶/۵۲	۸۵/۱۳ ± ۲۶/۶۸	۸۵/۶۰ ± ۲۶/۶۲	۸۶/۰۰ ± ۲۷/۳۹	۸۵/۲۰ ± ۲۷/۱۴	۰/۰۲۲	۱
Fe (µg/dL)								
درصد تغییر نسبت به حالت مبنا		۱/۲۹	۲/۳۲	۲/۸۸	۳/۳۷	۲/۴۰		

– منظور از میانگین یک آنالیت، میانگین حاصل از مقادیر آنالیت مذکور در نمونه‌های ۵۰ فرد مورد مطالعه در هر یک از حالت‌های مبنا، با تأخیر ۱، ۲، ۳، ٤ و ٥ ساعته نسبت به حالت مبنا می‌باشد.

– سطح معنی‌داری P < ۰/۰۵ در نظر گرفته شده است.

BS: Blood sugar; BUN: Blood urea nitrogen; U.A: Uric acid; Ca: Calcium; Mg: Magnesium; TG: Triglyceride; Chol: Cholesterol; HDL: High-density lipoprotein; AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; ALP: Alkaline phosphatase; T.B: Total bilirubin; D.B: Direct bilirubin; Alb: Albumin; T.P: Total protein; Amy: Amylase; Lip: Lipase; LDH: Lactate dehydrogenase; CPK: Creatine phosphokinase.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر که با هدف بررسی اثر تأخیر در جداسازی سرم بر روی نتایج تعدادی از تست‌های معمول آزمایشگاهی انجام گرفت، تأخیر در زمان جداسازی سرم تا ٦ ساعت پس از خون‌گیری؛ عملا تأثیر محسوسی بر روی میانگین میزان آنالیت‌های مختلف به جز BS نداشت، در حالی که به طور معنی‌داری بر روی میزان BS اثر کاهشی داشته است.

کاهش در غلظت گلوکز در نمونه‌ی خون کامل، ناشی از گلیگولیز اجزای سلولی است. میزان گلیگولیز در نمونه‌ی خون کامل به طور متوسط به ازای هر ساعت، ٥ تا ۷ درصد گزارش شده است (۹). در مطالعه‌ی حاضر، به طور متوسط به ازای هر ساعت تأخیر در جداسازی سرم، میانگین BS به میزان ٤/۸۷ درصد کاهش پیدا کرده که نزدیک به درصد مذکور می‌باشد. مقدار کاهش گلوکز علاوه بر

زمان، می‌تواند وابسته به عوامل دیگری از جمله دما و شمار گلبول‌های سفید باشد. در شرایطی که دما و شمار گلبول‌های سفید بالاتر باشد، با توجه به سوخت و ساز بالاتر، گلوکز به میزان بیشتری کاهش می‌یابد (۱۰). یک روش گسترده برای جلوگیری از انجام فرایند گلیکولیز، افزودن سدیم فلوئورید (NaF) به لوله‌های خون است. NaF آنزیم انولاز را که یک آنزیم دخیل در گلیکولیز می‌باشد، مهار می‌کند. اگرچه نشان داده شده است، NaF گلیکولیز را چهار ساعت بعد از خون‌گیری به طور کامل مهار می‌کند، اما تأثیر کمی در جلوگیری از گلیکولیز در دو ساعت اول بعد از خونگیری دارد (۱۱). در حقیقت، انولاز که آنزیم هدف فلوئورید است، به نسبت در محل دوری در مسیر گلیکولیز قرار گرفته و بنابراین حتی در حضور فلوئورید، در ابتدای فرایند گلیکولیز و قبل از اینکه نوبت به توقف عمل آنزیم انولاز برسد، گلوکز به وسیله‌ی ATP موجود فسفریله و گلوکز ۶-فسفات تشکیل می‌گردد که این می‌تواند علت کاهش گلوکز در یکی دو ساعت اول بعد از خون‌گیری حتی در حضور NaF باشد (۱۲).

Gambino و همکاران نشان دادند که اسیدی شدن نمونه‌ی خون کامل با استفاده از ترکیبی از بافر سیترات، NaF و EDTA در جلوگیری از گلیکولیز (از لحظه‌ی شروع جمع‌آوری خون) تأثیر بیشتری دارد (۱۳). با توجه به اینکه لوله‌های حاوی این ترکیبات به طور معمول در دسترس نیستند، پیشنهاد می‌شود به جهت کاهش کمتر گلوکز در نمونه‌ی خون کامل، لوله‌های جمع‌آوری خون بلافاصله پس از خون‌گیری بر روی یخ قرار داده شود و سانتریفیوژ نمونه‌ها با حداقل تأخیر در سانتریفیوژهای یخچال‌دار انجام و سپس سرم و پلاسما به طور فوری از نمونه برداشت گردند (۱۴).

برخلاف BS، سایر آنالیت‌های مورد بررسی پایداری بالایی از خود نشان دادند و تفاوت معنی‌داری بین میانگین‌های مقادیر آن‌ها در نقاط زمانی مختلف بر مبنای میزان تأخیر در جداسازی سرم مشاهده نشد. مطابق با مطالعه‌ی حاضر، در مرور سیستمی گسترده‌ای که توسط Hedayati و همکاران انجام گرفت، Cr، U.A، Ca، Mg، TG، Chol، HDL، AST، ALT، ALP، T.B، D.B، Alb، T.P، Amy، Lip، LDH و CPK آنالیت‌های پایداری گزارش شده‌اند (۱۵).

عدم امکان دستیابی به مقادیر آنالیت‌های مختلف دقیقاً در لحظه‌ی خون‌گیری، از جمله محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر بوده است که می‌توان در مطالعات بعدی با دستگاه‌هایی نظیر گلوکومتر (جهت اندازه‌گیری در لحظه‌ی قند خون) یا دستگاه‌های دیگر جهت اندازه‌گیری در لحظه‌ی سایر آنالیت‌ها، این محدودیت را رفع کرد. در مطالعه‌ی حاضر، صرفاً تأثیر تأخیر در جداسازی سرم بر آزمایشات بیوشیمیایی بررسی گردیده و پیشنهاد می‌گردد در مطالعات بعدی تأثیر این مورد بر سایر آزمایشات غیربیوشیمیایی (نظیر آزمایشات انعقادی) که انجام آن‌ها وابسته به جداسازی سرم است، بررسی گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه‌ی حاضر که در آن اثر تأخیر در جداسازی سرم تا ۶ ساعت بر نتایج آزمایشات بیوشیمیایی آمده است، می‌تواند کمک شایانی به کارشناسان آزمایشگاه در مواجهه با نمونه‌هایی داشته باشد که جداسازی سرم آن‌ها به هر علتی (از جمله دیر فرستاده شدن نمونه‌ها به آزمایشگاه) با تأخیر انجام می‌گیرد. بنابر نتایج مطالعه‌ی حاضر، به غیر از آزمایش BS که تأخیر زمانی فراتر از حد مجاز در جداسازی سرم، در مورد آن به نتایج نامعتبر می‌انجامد، آزمایشگاه‌ها می‌توانند در موارد ضروری نسبت به انجام آزمایشات بیوشیمیایی شامل BUN، Cr، U.A، Alb، D.B، T.B، ALP، ALT، AST، HDL، Chol، TG، Mg، Ca، T.P، Amy، Lip، LDH و CPK در نمونه‌هایی که جداسازی سرم آن‌ها با تأخیر زمانی تا ۶ ساعت صورت گرفته، اقدام و نتایج قابل قبولی را کسب نمایند. همچنین آزمایشگاه‌ها می‌توانند از مقادیر مقایسه‌ای ارائه شده در این مطالعه، در موارد ضروری برای تصحیح مقادیر قند خون در سرم‌هایی که با تأخیر جداسازی می‌شوند، استفاده کنند.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با هزینه‌ی شخصی پس از دریافت کد اخلاق به شماره‌ی IR.YUMS.REC.1401.133 از دانشگاه علوم پزشکی یاسوج انجام شده است. لازم می‌دانیم از کارکنان بیمارستان شهدای گمنام تأمین اجتماعی شهر یاسوج به سبب همکاری در اجرای این طرح، تشکر صمیمانه داشته باشیم.

References

1. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2006; 44(4): 358-65.
2. Abdollahi A, Saffar H, Saffar H. Types and frequency of errors during different phases of testing at a clinical medical laboratory of a teaching hospital in Tehran, Iran. N Am J Med Sci 2014; 6(5): 224-8.
3. Chaudhry N, Hayat A, Ahmad TM, Majeed N, Israr S, Saddique A. Effect of delayed centrifugation on serum chemistry. Pak Armed Forces Med J 2019; 69(3): 595-99.
4. Daves M, Roccaforte V, Giacomi M, Riva M, Leitner M, Platzgummer S, et al. Effect of delayed

centrifugation of whole blood on serum samples stability. Riv Ital Med Lab 2017; 13(1): 41-4.
5. Clark S, Youngman LD, Palmer A, Parish S, Peto R, Collins R. Stability of plasma analytes after delayed separation of whole blood: implications for epidemiological studies. Int J Epidemiol 2003; 32(1): 125-30.
6. Dupuy AM, Cristol JP, Vincent B, Bargnoux AS, Mendes M, Philibert P, et al. Stability of routine biochemical analytes in whole blood and plasma/serum: focus on potassium stability from lithium heparin. Clin Chem Lab Med 2018; 56(3): 413-21.
7. Jackson C, Best N, Elliott P. UK Biobank pilot study: stability of haematological and clinical chemistry analytes. Int J Epidemiol 2008; 37(Suppl 1): i16-22.
8. Oddoze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. Clin Biochem 2012; 45(6): 464-9.
9. Bruns DE, Knowler WC. Stabilization of glucose in blood samples: why it matters. Clin Chem 2009; 55(5): 850-2.
10. Tanner M, Kent N, Smith B, Fletcher S, Lewer M. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. Ann Clin Biochem 2008; 45(Pt 4): 375-9.
11. Turchiano M, Nguyen C, Fierman A, Lifshitz M, Convit A. Impact of blood sample collection and processing methods on glucose levels in community outreach studies. J Environ Public Health 2013; 2013: 256151.
12. Mikesh LM, Bruns DE. Stabilization of glucose in blood specimens: mechanism of delay in fluoride inhibition of glycolysis. Clin Chem 2008; 54(5): 930-2.
13. Gambino R, Piscitelli J, Ackattupathil TA, Theriault JL, Andrin RD, Sanfilippo ML, et al. Acidification of blood is superior to sodium fluoride alone as an inhibitor of glycolysis. Clin Chem 2009; 55(5): 1019-21.
14. Sacks DB, Arnold M, Bakris GL, Bruns DE, Horvath AR, Kirkman MS, et al. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of diabetes mellitus. Clin Chem 2011; 34(6): e61-99.
15. Hedayati M, Razavi SA, Boroomand S, Kheradmand Kia S. The impact of pre-analytical variations on biochemical analytes stability: A systematic review. J Clin Lab Anal 2020; 34(12): e23551.

DOI: *10.48305/jims.v41.i729.0624*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 41, No. 729, 1st Week, October 2023**

Received: 08.06.2023 Accepted: 09.08.2023 Published: 29.09.2023

The Effect of Delay in Serum Separation on the Results of Biochemical Tests

Masoud Marashifard[1], Hossein Vakilpour[2], Zahra Sayadi[3], Hossein Sadeghi[4], Akbar Fatemi[5], Khodakaram Jahanbin[6]

Original Article

Abstract

Background: The present study aimed to investigate the impact of delayed serum separation on the results of some biochemical tests, as one of the pre-analytical errors.

Methods: In this study, 50 healthy volunteers participated. 12 ml of blood was taken from each person and divided into 6 assigned tubes. In order to separate the serum, one sample from each participant was centrifuged as a base sample at the standard time (1 hour after blood sampling), the remaining samples from each participant were centrifuged with delay of 1,2,3,4 and 5 hours compared to the base sample. The serum from each sample was analyzed for 21 different analytes including blood sugar (BS), blood urea nitrogen (BUN), uric acid (U.A), calcium (Ca), magnesium (Mg), triglyceride (TG), cholesterol (Chol), high-density lipoprotein (HDL), aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP), total bilirubin (T.B), direct bilirubin (D.B), albumin (Alb), total protein (TP), amylase (Amy), lipase (Lip), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine phosphokinase (CPK).

Findings: A A significant difference was found in the mean blood sugar (BS) levels in the elapsed times from the time of blood sampling. The means of BS showed a decrease of 4.78 % on average for each hour of delay in serum separation. In the case of other analytes, no significant difference was observed between their means at each of the time points elapsed since the time of blood sampling.

Conclusion: Considering the significant effect of delay in serum separation on the BS test, it is necessary to centrifuge the whole blood sample and separate its serum as soon as possible. In the case of the other investigated analytes, a delay in serum separation of up to 6 hours did not significantly affect the results.

Keywords: Clinical laboratory science; Pre-analytical phase; Blood chemical analysis; Medical errors; Centrifugation

Citation: Marashifard M, Vakilpour H, Sayadi Z, Sadeghi H, Fatemi A, Jahanbin K. **The Effect of Delay in Serum Separation on the Results of Biochemical Tests.** J Isfahan Med Sch 2023; 41(729): 624-30.

1- BS in Medical Laboratory Science, Treatment Management of Social Security Organization of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, Yasouj, Iran
2- MSc in Clinical Biochemistry, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
3- MSc in Medical Virology, Treatment Management of Social Security Organization of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, Yasouj, Iran
4- Professor, Medicinal Plants Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
5- BS in Medical Laboratory Science, Treatment Management of Social Security Organization of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, Yasouj, Iran
6- MSc in Medical Immunology, Legal Medicine Research Center, Legal Medicine Organization, Yasouj, Iran
Corresponding Author: Masoud Marashifard, BS in Medical Laboratory Science, Treatment Management of Social Security Organization of Kohgiluyeh and Boyer-Ahmad Province, Yasouj, Iran; Email: masoud.marashifard@gmail.com