

# Correlación de determinaciones bioquímicas al usar dos tipos diferentes de tubos para muestras sanguíneas

Claudio Suárez S., María Nelly Araneda F., Ana María Tong S., María Jesús Vial C. Jorge Aldunate O.

*Servicio Laboratorio Clínico, HCUCh.*

**SUMMARY** *The impressive development of the clinical laboratory network of the HCUCh has forced a complete protocol revision, specially directed towards the procedures involved in way the biological samples are obtained. This includes the selection of the tubes used. In this sense, the use in the different centers of SS tubes, which stands for serum separating tubes, was evaluated. The SS tubes consist of a gel that which after centrifugation separates the thrombotic and serum phases, forming an impermeable barrier in between. Before its onset, is necessary to compare with the aid of the bio-statistical parameter of correlation coefficient both the biochemical and hormonal measurements obtained through the use of the typical tubes (containing heparin or without anticoagulant reactive) and those of the SS tubes. The determinations included 27 parameters, consistent of biochemical, electrolytic and hormonal measurements. The data collected was tabulated and afterwards the statistical analysis was performed, considering correlation and concordance, and then the interclass Correlation coefficient (ICC) was applied. The concordance study concluded that 26 of the 27 evaluated parameters have a value of ICC between 0.858 and 1.0, Only the direct bilirubin showed a low ICC (0.08), possibly, it must be considered the low values of it found in the samples, and therefore to make the result to significant the evaluation has to be made among a greater number of samples. In summary, the results supported the adoption of tubes SS for the clinical laboratories processes, since these threw equivalent and trustworthy results compared with the conventional tubes for the medical studied with advantages in operator protection and samples transport.*

**Recibido 08/06/2006 | Aceptado 16/10/2006**

## INTRODUCCIÓN

Las nuevas generaciones de tubos para la extracción de muestras sanguíneas disponibles en el mercado están desarrolladas en base a la evolutiva demanda de las necesidades clínicas. Factores como la creciente cantidad de muestras, las con-

diciones de transporte de éstas desde centros externos, la mejoría técnica de los equipos analíticos, la automatización de los procesos técnicos y de información, así como el mejoramiento continuo de la bioseguridad del personal de laboratorio, dan cuenta del creciente, complejo y continuo cambio en el desarrollo de los procesos en el interior de los

laboratorios clínicos. Todo lo anterior condiciona a la calidad analítica de las determinaciones y a la oportunidad de la entrega de resultados.

Los tubos Separadores de Suero (SS) constan de un gel de propiedades tixotrópicas, lo que le permite tener una consistencia semi-sólida bajo condiciones estáticas, mientras que su viscosidad disminuye cuando es sometido a la acción de fuerza. Así, después de una centrifugación, el gel separa las fases de suero y coágulo en base a una gradiente de densidad y forma una barrera impermeable entre las fases mencionadas<sup>(1,2)</sup>.

Desde su aparición en 1975, los tubos SS han ido mejorando su calidad y bioseguridad para la manipulación de muestras. En la actualidad, son tubos de polietileno, que contienen un activador de coágulo, debido a que el plástico no es un activador natural de la coagulación como lo es el vidrio<sup>(2)</sup>. Inicialmente, se discutió el uso de tubos SS, principalmente porque no eran muy estables las determinaciones de niveles de drogas anticonvulsivantes; similar situación ocurría con las drogas antidepresivas, las cuales solamente mantenían valores estables si en las muestras, las fases sérica y celular se separaban antes de 3 horas post extracción<sup>(3)</sup>. Posteriormente, tales problemas se solucionaron al modificar el tipo de gel separador utilizado en los tubos y así se pudo demostrar la estabilidad en las determinaciones bioquímicas y también en la de drogas<sup>(4,5)</sup>.

Las características actuales de los tubos SS de polietileno se traducen en las siguientes ventajas operativas para el laboratorio clínico<sup>(6)</sup>:

1. El uso de los tubos SS como tubos primarios para la determinación de los analitos, evitando el uso de tubos secundarios (alícuotas), lo cual en la práctica significa disminuir el error de laboratorio.
2. Mayor flexibilidad en las condiciones de centrifugación de las muestras, lo cual permite dismi-

nuir el tiempo de procesamiento preanalítico.

3. La utilización del tubo primario para almacenamiento.
4. La estabilidad de las determinaciones de analitos, independiente de las condiciones de almacenamiento.
5. El menor peso de los tubos SS plásticos respecto a los de vidrio, facilita las condiciones de transporte.
6. Disminución de la frecuencia de hemólisis *in vitro*<sup>(4, 7, 8)</sup>.
7. La facilidad de incineración de los tubos SS luego de su uso, disminuye potenciales riesgos biológicos.

El desarrollo del concepto de red de laboratorios, con unidades de tomas de muestras y laboratorios separados del laboratorio central ha obligado a los laboratorios clínicos a revisar los procesos de trabajo interno, dentro de esto está la utilización de tubos SS para tomar las muestras, con importantes ventajas operativas, pero que requieren del análisis de concordancia analítica respecto de los tubos utilizados en forma habitual: con este propósito, se realizó un estudio comparativo de las determinaciones bioquímicas y hormonales, utilizando los tubos SS y los tradicionales tubos con heparina o sin anticoagulante usados de rutina, previa su utilización clínica.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo durante el mes de diciembre del año 2005, con muestras provenientes de la Toma de Muestras Central del HCUCh y de los servicios clínicos de Unidad de Pacientes Críticos, Unidad Coronaria, Unidad de Intermedio de Nefrología.

Se incluyó las muestras con solicitudes para perfil bioquímico, perfil hepático, perfil lipídico, creatinina, proteína C reactiva, hormonas tiroideas y electrolitos.

Se consideraron las determinaciones bioquímicas, hormonales y de electrolitos solicitadas aisladamente y aquéllas que formaban parte de un perfil determinado. El número de muestras para cada analito fue diferente, y se estableció en relación a la frecuencia de solicitud de cada una de las determinaciones.

Se procedió con la entrega de información sobre el manejo de los tubos SS a los flebotomistas, sobre todo para mezclar la muestra con el polvo activador de coagulo en el interior del tubo, tras la extracción de sangre venosa. La recolección y traslado al Laboratorio Clínico de las muestras en tubo SS se efectuó en forma concomitante a la extracción y traslado de muestras de tubos con heparina o sin anticoagulante utilizados en forma rutinaria en el Servicio de Laboratorio Clínico HCUCh.

Los tubos de rutina y los sometidos a comparación fueron sometidos a las mismas condiciones de centrifugación, 1500 x g por 10 minutos.

Los análisis bioquímicos y electrolíticos fueron realizados en el autoanalizador VITROS FUSION 5,1® (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson) y las determinaciones hormonales se llevaron a cabo en el autoanalizador Vitros Eci Q® (Ortho Clinical Diagnostics, Johnson & Johnson).

Los tubos SS fueron utilizados como tubos primarios, mientras que los tubos con heparina o sin anticoagulante, se procedió con el análisis desde una alícuota obtenida de los mismos.

Los datos recopilados se tabularon en planillas Excel y se evaluó su concordancia, por medio de la aplicación del coeficiente de correlación intraclass. El CCI es una aproximación adecuada para valorar la concordancia entre las medidas<sup>(9)</sup>. A priori, se estableció que valores de CCI mayores a 0,75 corresponden a muestras equivalentes y utilizables

en forma indistintiva, desde el punto de vista analítico y clínico<sup>(10)</sup>.

## RESULTADOS

En la Tabla 1, se muestran los resultados obtenidos al comparar algunas determinaciones de química general (sección A), de electrolitos (sección B) y de hormonas (sección C), utilizando tubos SS y los tradicionalmente utilizados en el laboratorio.

Para cuantificar la fiabilidad de las mediciones asociadas a las variables cuantitativas continuas, el índice estadístico que se debe utilizar es el coeficiente de correlación intraclass (CCI). Valores del CCI por debajo del 0,4 representan baja fiabilidad, los valores entre 0,4 y 0,75 representan una fiabilidad entre regular y buena, y que valores por encima de 0,75 representan una fiabilidad excelente<sup>(10)</sup>.

La aplicación de este coeficiente determina que 26 de los 27 parámetros evaluados tienen un valor de CCI sobre 0.75, lo que significa una alta concordancia para las determinaciones bioquímicas, electrolíticas y hormonales, en forma independiente del tubo utilizado para la recolección de la muestra, esto es, se pueden utilizar indistintamente uno u otro.

El único metabolito que muestra un bajo CCI fue bilirrubina directa (CCI=0,254), lo cual puede explicarse por los bajos valores de este analito en la muestra (media de 0.08), y que debe ser evaluado con un n mayor de muestras en estudios posteriores.

Para los restantes analitos estudiados, los valores de CCI obtenidos fluctúan entre 0,959 y 1 para las determinaciones bioquímicas (sección A), entre 0,893 y 0,991 para los electrolitos plasmáticos (sección B) y entre 0,858 y 0,999 para las hormonas tiroideas y  $\beta$ HCG estudiadas.

**Tabla 1. Estudio comparativo de determinaciones bioquímicas, electrolitos y hormonales utilizando tubos SS y los actualmente en uso en los procesos de rutina asistencial del Hospital Clínico Universidad de Chile.**

**a. Determinaciones bioquímicas**

Analito	Tubo heparina			Tubo SS		CCI
	n	Promedio	DE	Promedio	DE	
Glucosa	57	104,4	32,9	103,0	33,0	0,991
BUN	55	19,8	12,8	19,9	12,7	0,999
Proteínas totales	37	7,3	0,9	7,1	1,0	0,959
Fósforo	39	3,8	0,8	3,9	0,8	0,978
Ácido úrico	38	4,9	2,1	4,9	2,0	0,999
Calcio	38	8,8	0,7	8,9	0,7	0,980
Albúmina	36	4,1	0,7	4,1	0,8	0,992
LDH	38	610,3	398,7	664,1	395,1	0,991
Creatinina	34	1,0	0,7	1,0	0,7	0,998
PCR	15	126,6	94,8	132,6	96,6	0,991
Colesterol total	50	187,6	52,6	186,4	52,3	0,997
HDL	27	49,1	11,9	47,5	11,6	0,961
Triglicéridos	25	147,9	80,9	147,6	80,9	0,999
Bilirrubina total	53	0,7	0,6	0,7	0,6	0,992
Bilirrubina directa	19	0,1	0,1	0,2	0,3	0,254
Fosfatasas alcalinas	54	112,3	58,3	114,8	47,2	0,997
GGT	21	74,0	84,0	74,1	86,9	1,000
GOT	51	46,8	65,3	44,8	65,9	0,997
GPT	21	62,2	136,4	72,2	134,4	0,997

**b. Determinaciones de electrolitos plasmáticos**

	Tubo heparina			Tubo SS		CCI
	n	Promedio	DE	Promedio	DE	
Sodio	22	139,8	5,0	139,7	5,0	0,987
Potasio	22	4,1	0,4	4,3	0,4	0,893
Cloro	23	108,7	6,2	109,1	6,4	0,991

**c. Determinaciones hormonales**

	Tubo heparina o sin anticoagulante			Tubo SS		CCI
	n	Promedio	DE	Promedio	DE	
TSH	31	3,3	2,8	3,4	2,8	0,999
T4 libre	20	1,0	0,2	1,1	0,2	0,908
T4	11	8,0	2,9	8,3	3,0	0,951
T3	12	1,3	0,3	1,4	0,3	0,858
β HCG	7	3728,9	9864,7	3851,8	10242,8	0,999

## DISCUSIÓN

Las ventajas operativas derivadas del uso de los tubos SS deben correlacionarse a los factores analíticos y no analíticos que afectan el proceso diagnóstico del laboratorio.

1. En el caso de los factores analíticos, la estabilidad de los analitos a temperatura ambiente se favorece al separar precozmente la fase celular de la no celular. el contacto de la fase celular (coágulo) con la fase sérica o plasmática por más de 24 horas a temperatura ambiente, produce alteraciones en la mayoría de los analitos, fundamentalmente debido a:

- Depleción de glucosa con falla de la bomba  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPasa}$ .
- Movimiento de agua dentro de las células, causando hemoconcentración.
- Fuga de metabolitos y constituyentes intracelulares<sup>(9-10)</sup>.

Entre las fases no celulares, se observa una mayor estabilidad de analitos cuando la fase sérica está en contacto con la fase celular<sup>(11)</sup>.

El uso de los tubos SS permite una separación precoz de las fases, siendo la fase no celular una fase sérica, se deduce una mayor estabilidad de los analitos; sobre todo si los analitos presentan una alta susceptibilidad a la modificación de sus concentraciones, como ocurre con la glucosa, el potasio y el fósforo, los cuales deben ser centrifugados y separados antes de las 3 horas post extracción de la muestra<sup>(12)</sup>.

Al comparar los nuevos tubos SS de polietileno<sup>(2,6)</sup> con sus predecesores de vidrio, no se observó diferencias significativas en las determinaciones bioquímicas comunes<sup>(7)</sup>. La utilización de tubos SS de polietileno produce una disminución de la hemó-

lisis, factor importante de interferencia analítica, sobre todo como se describe para la determinación de insulina<sup>(4,8)</sup>. Las ventajas del polietileno fueron ratificadas en un estudio que demostró la concordancia de las determinaciones hechas en tubos de polietileno respecto a los de vidrio en determinaciones bioquímicas, inmunoquímica, hormonas, marcadores tumorales y determinación de elementos traza<sup>(8, 13)</sup>.

Los tubos de polietileno presentaron una disminución tiempo dependiente de la concentración de CA 125<sup>(8)</sup>. Sin embargo, un estudio demostró la estabilidad de la concentración de marcadores tumorales en las primeras 24 horas, si eran conservados a 4° C incluyendo al CA 125<sup>(14)</sup>. Otro estudio evidenció la utilidad de los tubos SS para la determinación de NT-proBNP, marcador de insuficiencia cardiaca de amplio uso en la actualidad<sup>(15)</sup>. Finalmente, la larga discusión respecto del rendimiento de los tubos SS en las determinaciones de drogas terapéuticas, terminaron tras la introducción de una nueva generación de gel estable para estas determinaciones en el año 2000<sup>(5)</sup>.

2. En cuanto a los factores no analíticos, el uso de Tubo SS permite una separación estable de las fases celular y sérica en forma permanente, lo que facilita sus condiciones de transporte tras la centrifugación, no siendo necesaria una nueva centrifugación previa al proceso analítico. La separación de las fases permite la utilización del mismo tubo SS, como tubo de análisis en los equipos autoanalizadores y su uso posterior como tubo de almacenamiento.

El uso de polietileno facilita las condiciones de transporte debido a que es un material más liviano y resistente que el vidrio, lo que además mejora las condiciones de bioseguridad del personal que manipula las muestras<sup>(6)</sup>. En cuanto al almacenamiento, es indudable las ventajas derivadas del uso del tubo SS para almacenar las muestras, tanto por

la estabilidad en el tiempo de las determinaciones, como por la facilitación de la recuperación de muestras almacenadas debido a que está rotulado con un código de barra que contiene toda la información de la muestra, a diferencia del tubo de almacenamiento actual que solamente está rotulado con un número de interno del laboratorio.

Por otro lado, en ningún estudio se ha apreciado diferencias significativas en la serología viral determinada por ELISA para HBs Ag, anti HBs Ag, IgG anti Toxoplasma Gondii, IgG antirubéola, IgM anti CMV, e IgM anti VEB cuando las muestras son analizadas después de mantenerlas congeladas<sup>(16)</sup>. Lo que sí la literatura describe es una inestabilidad de los niveles de triyodotironina al utilizar tubos SS, con una tendencia a aumen-

tar sus valores en el tiempo<sup>6</sup>, no conociéndose la identidad del interferente que produce este efecto, atribuyéndosele la responsabilidad al revestimiento siliconado del tubo<sup>(6)</sup>.

Nuestros datos de concordancia entre las determinaciones estudiadas reproducen la experiencia primaria con tubos SS en 1976<sup>(1)</sup>, evidenciando que no existen diferencias analíticas respecto de los tubos tradicionalmente usados en el laboratorio clínico. Lo anterior asociado a las ventajas que evidencian en distintas instancias del proceso diagnóstico, así como la fortaleza que significa bajar el riesgo biológico a los funcionarios que los manipulan, hace que la introducción de los tubos SS sea muy beneficiosa dentro de la modernización de procesos en los laboratorios clínicos.

## REFERENCIA

1. Laessig RH, Carey RN, Westgard JO, Hassemer DJ, Habig R. Field evaluation of the Becton-Dickinson SST. *Health Lab Sci* 1976;13:209-17.
2. Arzoumanian, L. What is the importance of properly processing a BD Vacutainer® SST™ Tube? [http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/techtalk/TechTalk\\_November2005\\_VS7436.pdf](http://www.bd.com/vacutainer/pdfs/techtalk/TechTalk_November2005_VS7436.pdf)
3. Karppi J, Akerman KK, Parviainen M. Suitability of collection tubes with separator gels for collecting and storing blood samples for therapeutic drug monitoring (TDM). *Clin Chem Lab Med* 2000;38:313-20.
4. Bush V, Janu M, Bathur F, Wells A, Dasgupta A. Comparison of BD vacutainer sst™ plus tubes with bd sst™ ii plus tubes for common analytes. *Clin Chim Acta* 2001;306:139-43.
5. Bush V, Blennerhasset J, Well A, Dasgupta A. Stability of therapeutic drugs in serum collected in vacutainer serum separator tubes containing a new gel (SST II). *Ther Drug Monit* 2001;23:259-62.
6. Bowen R, Chan Y, Cohen J, Rehak N, Hortin G, Csako G et al. Effect of blood collection tubes on total triiodothyronine and other laboratory assays. *Clin Chem* 2005;51:424-33.
7. Hill B, Laesslg R, Koch D, Hassemer D. Comparison of plastic vs. glass evacuated serum-separator (ssttm) blood-drawing tubes for common clinical chemistry determinations. *Clin Chem* 1992;38:1474-8.
8. Preissner C, Reilly W, Cyr R, O'Kane D, Singh R, Grebe S. Plastic versus glass tubes: effects on analytical performance of selected serum and plasma hormone assays. *Clin Chem* 2004;50:1245-7.
9. Carrasco J, Jover L. Métodos estadísticos para evaluar la concordancia. *Med Clin (Barc)* 2004;122(S1):28-34.

10. Prieto L, Lamarca R, Casado A. La evaluación de la fiabilidad en las observaciones clínicas: el coeficiente de correlación intraclase. *Med Clin (Barc)* 1998;110:142-5.
11. Boyanton B, E. Blick K. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem* 2002;48:2242-7.
12. Zhang D, Elswick R, Miller G, Bailey J. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem* 1998;44:1325-33.
13. Boeynaems JM, De Leener A, Dessars B, Villa-Lobos HR, Aubry JC, Cotton F et al. Evaluation of a new generation of plastic evacuated blood-collection tubes in clinical chemistry, therapeutic drug monitoring, hormone and trace metal analysis. *Clin Chem Lab Med* 2004;42:67-71.
14. Banfi G, Parma P, Pontillo M. Stability of tumor markers ca 19.9, ca 125, and ca 15.3 in serum obtained from plain tubes and tubes containing thixotropic gel separator. *Clin Chem* 1997;43:2430-1.
15. Dasgupta A, Chow L, Tso G, Nazareno L. Stability of NT-proBNP in serum specimens collected in becton dickinson vacutainer (SST) tubes. *Clin Chem* 2003;49:1958-60.
16. Rosa-Fraile M, Sampedro A, Rodríguez-Granger J, Camacho E, Manrique E. Suitability of frozen serum stored in gel separator primary sampling tubes for serological testing. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004;11:219-21.

**CORRESPONDENCIA**

Dr. Xxxx Xxxxxx Xxxxx

Xxxxxx

Hospital Clínico Universidad de Chile

Santos Dumont 999, Independencia, Santiago

Fono:

Fax:

Email:

