

NUMUNE ALMA TÜPLERİ VALİDASYONU VE VERİFİKASYONU



Berrin Berçik İnal

TBD - BD Preanalitik Evre Sempozyumu
28 - 29 Nisan 2018, KAYSERİ

- **Validasyon (geçerli kılma);** objektif kanıtların sağlanması yoluyla uygulamaya yönelik şartların yerine getirildiğine dair onaylamadır (ISO 9000).
- Validasyon, tasarım hedeflerinin yerine getirildiğinden emin olmayı amaçlar ve **öncelikle üreticinin sorumluluğundadır.**



- **Verifikasyon (onaylama);** herhangi bir cihaz veya tıbbi ihtiyaç için objektif kanıtlar kullanarak üreticinin bildirdiği özelliklerin karşılandığının gösterilmesidir ve **kullanıcının (klinik laboratuvar)** sorumluluğundadır (ISO 9000).



- **Doğruluk-Accuracy (measurement):** Ölçülen değer ile referans değer arasındaki uyumun göstergesidir (ISO/IEC 99).
- **Bias:** Kabul edilen referans değer ile elde ettiğimiz sonuç arasındaki farktır (ISO 3534-1). Sistematik hatanın göstergesidir.
- **Tekrarlanabilirlik (Imprecision):** Aynı koşullar altında yapılan ölçümlerin dağılımıdır (**SD** veya **CV** olarak bildirilir).



- **Kesinlik-Precision:** Belirli koşullarda elde edilen sonuçların dağılımıdır (ISO 3534-1).

Sayısal bir değerle ifade edilmemekle birlikte **imprecision** gibi **SD** veya **CV** değeri olarak ifade edilir.

Tekrarlanabilirlik (repeatability) ve **tekrar üretilebilirlik** (reproducibility) olarak ifade edilir.

Tekrarlanabilirlik bir örneğin aynı ekipman ve aynı analist tarafından çalışıldığında elde edilen test sonuçlarının dağılımıdır.

Tekrar üretilebilirlik ise bir örneğin aynı metot ile farklı ekipman -farklı analist- tarafından elde edilen test sonuçlarının dağılımıdır.



- **Toplam Analitik Hata (TAH)** Bir test sonucuna rastlayan Rastgele ve Sistematik hatanın toplamıdır.

Hasta güvenliği bakımından **Toplam analitik hatanın, İzin verilen toplam hata (Total Allowable Error, TAE)** sınırını aşmaması gerekir.



○ **Varyasılan kan toplama tüplerinin sonuçları etkilemediğidir.**

•
Oysa sonuçlar **kan tüplerinin de içinde olduğu pek çok faktörden** etkilenmektedir.

•





Validation and Verification of Tubes for Venous and Capillary Blood Specimen Collection; Approved Guideline

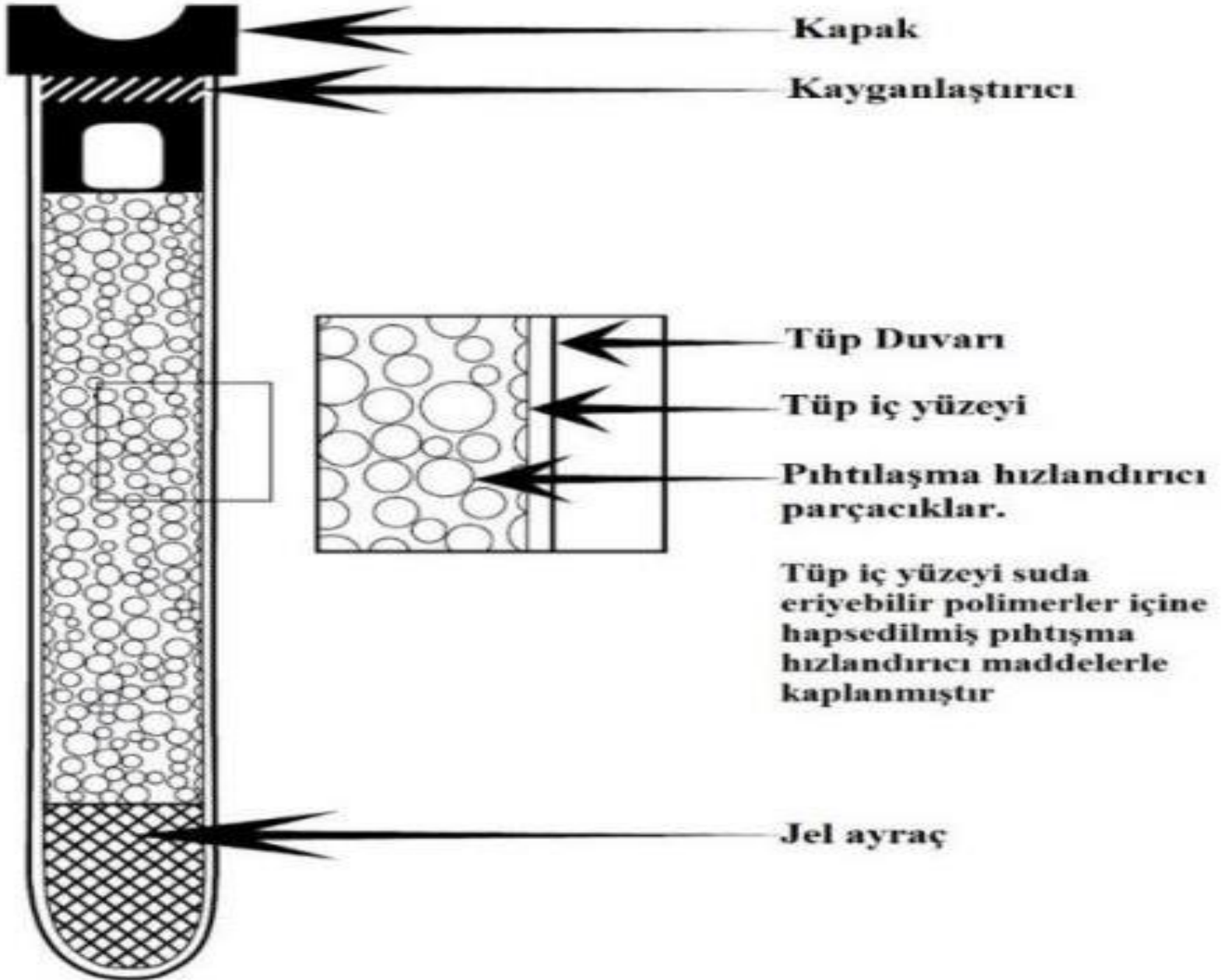
GP34-A



December 2010

Validation and Verification of Tubes for
Venous and Capillary Blood Specimen
Collection; Approved Guideline

3.1	A Note on Terminology	1
3.2	Definitions	2
3.3	Abbreviations and Acronyms	4
4	<u>Impact of Blood Collection Tubes on Test (Examination) Performance</u>	4
4.1	Tube Wall	5
4.2	Closures	5
4.3	Closure Lubricant	6
4.4	Surfactants	6
4.5	Clot Activators	6
4.6	Anticoagulants	7
4.7	Separator Gel	8
4.8	Trace Metals	8
5	<u>Validation and Verification of Venous Blood Collection Tubes</u>	9
5.1	Preanalytical (Preexamination) Considerations	9
5.2	Determining the Need for Validation and Verification	9
5.3	Clinical Evaluation—Planning, Designing, and Conducting the Clinical Evaluation	10
5.4	Data Analysis	14
5.5	Clinical Acceptance Criteria	15



- Tarihsel olarak ilk laboratuvar tüpü borosilikat camdan üretilmiştir.
- Son yirmi yıldır cam yerine **polyethylene terephthalate**, polyethylene, **polypropylene**, polytetrafluoroethylene, polysiloxane, polyvinyl chloride, polyacrylonitrile, ve polystyrene malzemelerden üretilmektedir.
- Bu tüpler cam malzemedен farklı olarak **yüksek santrifüjleme hızlarına dayanıklılık sağlamaktadır, ekonomiktir.**



- Tüpler, **kauçuk tıplar** veya **plastik vidalı kapaklar** ile kapatılmaktadır. Bu konuda yaygın olarak kullanılan malzemeler **izobutilen-izopren** gibi kauçuk materyaldir. Kapağın kolay çıkarılması için **kayganlaştırıcı maddeler** kullanılır.
- Kauçuk tıpalarda kullanılan **tris (2-butoxyethyl) phosphate** maddelerinin ilaç düzeyi (Kinidin, propranolol, lidokain, trisiklik antidepresanlar ve flufenazin klorpromazin) ölçümlerini etkilediği gösterilmiştir.



- **Kapak materyelinde kullanılan magnezyum, alimünyum ve çinko** gibi maddeleri bu analitlerin ölçümlerini etkilediği belirtilmektedir.
- Surfaktanların da lityum, magnezyum ve immunassay ölçümlerini etkilediğini gösteren çalışmalar vardır.



- Cam tüpleri pıhtı aktivatörlerine ihtiyaç duymaz, çünkü kanın cam yüzeyi ile teması pıhtılaşmayı başlatır.
- Bununla birlikte, plastik tüpler, **inorganik silikatlar veya elagik asit, trombin ve tromboplastin gibi biyokimyasallar** gibi pıhtı aktivatörlerinin varlığını gerektirir.
- Bazı kan toplama tüpleri, aktivatörün çalışması için **polivinilpirrolidon veya plastik boncuklar** kullanır.
- Pıhtı aktivatör partikülleri bazı örneklerde pıhtı ile tamamen pellet oluşturmayabilir ve serum içinde kalarak bazı analitik etkileşimlere neden olabilir.



Antikoagülanlar da ölçümlerimizi etkileyebilmektedir:

- **EDTA** Ca, Zn ve Mg gibi analitleri bağlamakta, Bunun dışında EDTA plazmada yapılan immünassay ölçümlerinde kullanılan ALP' in kofaktörü olan Ca, Zn ve Mg' u da bağlayarak bu ölçümleride etkileyebilir.
- **Sodyum sitrat** da şelatlama ile Ca' u bağlar, ALP ve AST gibi enzimler için de inhibitör özelliği vardır.
- **Heparin** de lipoprotein lipazı invitro olarak aktive ettiği için lipolize neden olarak serbest yağ asitlerinin ortaya çıkmasına yol açar.

- Yine **Potasyum oksalat** kalsiyumu bağladığı için Ca ölçümlerinde kullanılmamalıdır. Ayrıca asit ve alkalın fosfataz, amilaz ve LDH gibi enzimleri de inhibe etmektedir.
- **Sodyum florid**, **Sodyum iyodoasetat** glikolizde yer alan bazı enzimleri inhibe ederek glikoz ve alkolün korunmasına neden olur.



Seperatör jeller pıhtılaşmış tam kandan veya plazmadan gelen hücreleri serumdan ayırmak için kullanılmaktadır, genellikle **viskoz sıvı ve dolgu maddelerinden** yapılır.

- Bu tip tüplerde ayırıcı jelin bazı hidrofobik ilaçları bağlayarak yanlış düşük sonuçlara yol açabileceği bildirilmiştir.
- Jel parçacıklarının numune probu ve küvetlere bulaşarak; katı faz immünoassay sistemlerde ise fiziksel etkileşim ile yanlış sonuçlara yol açabileceği bildirilmektedir.

Bu tip tüplerin önerilen sıcaklık ve santrifüj hızlarına uyularak kullanılması **jel sebepli test interferansını azaltmak için** önemlidir.



- Bazı tüplerde pıhtılaştırmayı kolaylaştırmak amacıyla kullanılan maddeler **püskürtülmüş kuru formda** kullanılmaktadır; bu nedenle örneklerin alt-üst edilmesi önemlidir.

Bazı tüplerde ise bu maddeler sıvı halde kullanılır. **Sıvı katkı maddeleri örnek seyrelmesine** yol açabilir.



- Bir tp üreticisi piyasaya yeni veya büyük lde modifiye edilmiş bir numune tüpü sunduğunda, cihazların **güvenliğini ve etkinliğini sağlamak için** analitik ve klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.
- Benzer şekilde yeni sunulan ölüm kitleri ve analizörler üreticilerinin de numune tüplerinin performans özelliklerini test veya cihazlarıyla **doğrulaması** gerekir.



- Klinik laboratuvarların kullandıkları bir tüpü değiştirirken karşılaştırmalı bir tüp çalışması yapması önerilmektedir.



- Tüp değerlendirme çalışmalarında bir protokol oluşturmak önemlidir.



LABORATUVARLARIMIZDA VERİFİKASYON ÇALIŞMALARI NASIL YAPILMALI??

15th EFLM Continuous Postgraduate Course in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
October 24-25, 2015 – Zagreb, Croatia

Blood collection device

Blood collection
device



Main sources of phlebotomy errors.

Phlebotomy Errors and Quality Improvement
in Results of Laboratory Testing

© 2015 EFLM. All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or by any information storage and retrieval system, without the prior written permission of the publisher.

- Üreticinin tüm cihazlarda tüplerini denemesi mümkün değildir.
- Bu yüzden laboratuvarlar ilk defa deneyecekleri tüpler için verifikasyon çalışması yapmalıdır.



1) Etik Kurul Onayı Alın

2) Kan alınacak grupları belirleyin:

Onkoloji hastaları

Diyaliz hastaları

Acil hastalar veya

Karışık grup

3) Preanalitik standardizasyonu sağlayın (aynı flebotomist, turnike uygulaması, kanın satrifülden önceki bekleme süresi, saklama koşulları, bireylerin açlık süreleri, sabah dinlenme zamanları vb.).

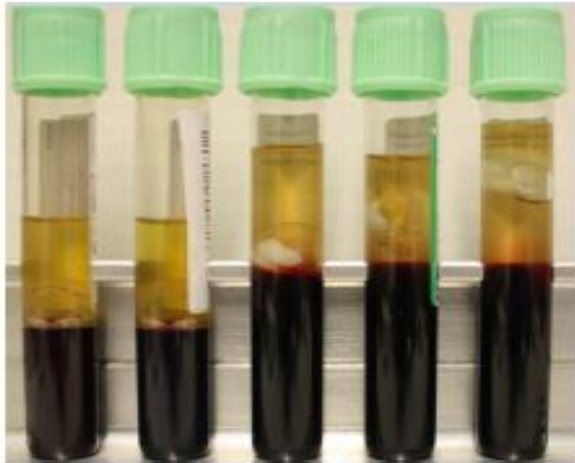
4) **Randomizasyon ŞART.**

	1. Tüp	2. Tüp
1. Kişi	Kontrol Tüpü	Değerlendirilen Tüp
2. Kişi	Değerlendirilen Tüp	Kontrol Tüpü
3. Kişi	Kontrol Tüpü	Değerlendirilen Tüp



5) Kan alındıktan sonra uygun proserüdürlere plazma veya serumu hazırlayın

•



Complete

Incomplete

Hemolysis



Complete



Incomplete



Fibrin Mass



0 – No fibrin



1 – Fibrin mass



6) Çalışma öncesi kalibrasyon ve iç kalite kontrolünüzü yapın; çalışmanız bittikten sonra ise tekrar iç kalite kontrolünüzü çalışarak çalışma sürecinden emin olun.

7) Değerlendirdiğiniz analit /analitler için “analitik ölçüm aralığını” kapsayacak ve eşit sayıda dağılmış örnek sayıları belirleyin.

Yeterli numune sayısına ulaşamadığınız durumlarda gerekli analitik ölçüm aralığını elde etmek için örneklerin “spike” edilmesi gerekli olabilir.

İstatistiksel geçerlilik için, çoğu ölçümde **20 ila 30 kişi** yeterlidir. (FDA) ve (WHO)’ya göre bu sayı **40** olarak önerilmiştir. Çalışma en çok 20 gün içinde tamamlanmalıdır.

8) Tekrarlanabilirlik için 20 sağlıklı birey alın ve tüplerden çift analiz yapın

9) Her örneği laboratuvarın standart işletim prosedürüne göre analiz edin.

- 10) verileri kaydedin ve önceden belirlenmiş kriterlere göre (CAL, TAE) kabul edilebilirliği kontrol edin.
- 11) Veri analizini gerçekleştirin.
- 12) Uç değerleri (Outliers) Dixon, Tukey veya box plot ile atın (CLSI EP 09).



Contents lists available at [ScienceDirect](#)

Clinical Biochemistry

journal homepage: www.elsevier.com/locate/clinbiochem



Review

Blood collection tubes as medical devices: The potential to affect assays and proposed verification and validation processes for the clinical laboratory

Raffick A.R. Bowen ^{a,*}, Dorothy Adcock ^b

^a Department of Pathology, Rm H1401J, Stanford University Medical Center, 300 Pasteur Drive, Stanford, CA 94305-5627, United States

^b Colorado Coagulation, Laboratory Corporation of America® Holdings, Englewood, CO, United States

13) TANIMLAYICI istatistiklerini belirleyin: Ortalama, Standart Sapma, Ortanca, minimum, maksimum değerleri vb.

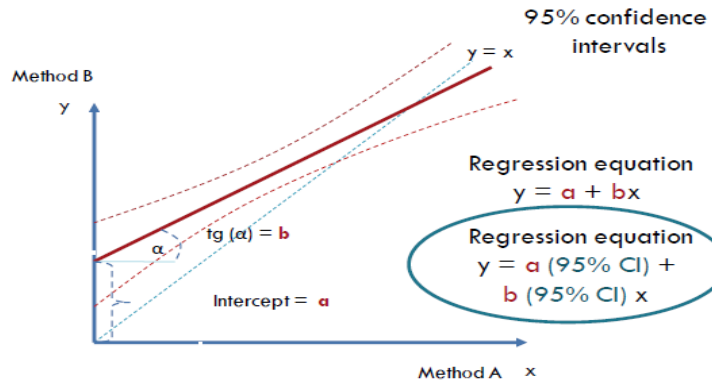
- Parametrik örnek ise **bağımlı örneklerde student t testi** non-parametrik ise **Wilcoxon-Signed-Rank test** uygulayın.



Linear regression, Deming Regression, Weighted Deming Regression ve/veya Passing-Bablok ile sabit ve oransal hatayı tesbit edin

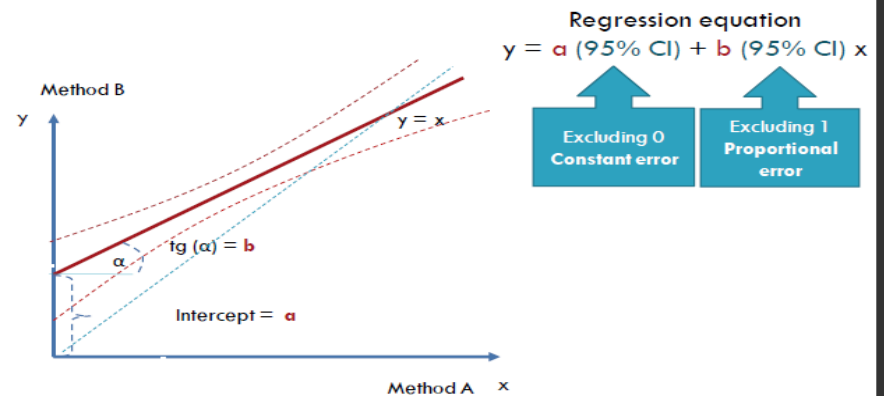
Linear regression

16



Constant and proportional error

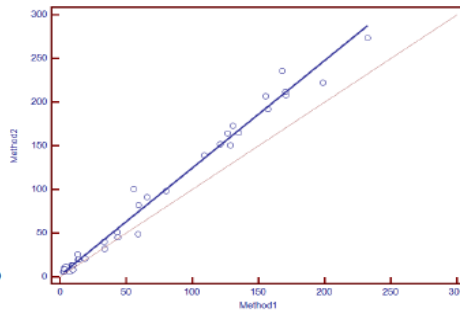
17



Deming regression

18

- Includes analytical variability of both methods (CV)
- Assumes that errors are independent and normally distributed
- Both methods prone to errors



$$y = 1.74 (-1.77 \text{ to } 5.24) + 1.23 (1.16 \text{ to } 1.30) x$$

No constant error



Proportional error



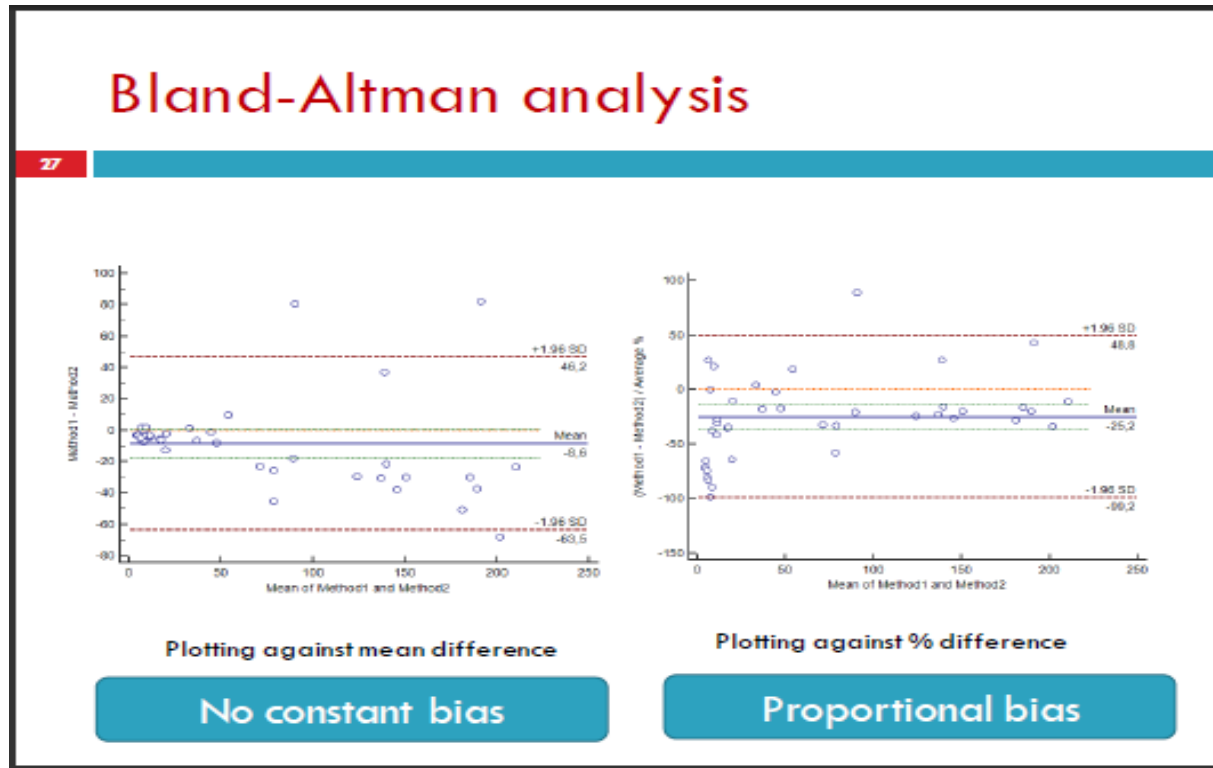
Passing-Bablok regression

19

- Non-parametric method
- No assumptions about distributions of samples
- No assumptions about distributions of errors
- Not sensitive to outliers



- **Bland-Altman Analiz** uygulayın.
- Bland-Altman yöntemini uygulamak için Farklar, yaklaşık olarak normal dağılıma uyuyorsa ve istatistiksel olarak farklar ve ortalamalar arasında ilişki yoksa iki metot arasındaki uyum farklarının ortalaması ve standart sapması kullanılarak **Bland-Altman yöntemi** ile incelenebilir.



Sadece istatistiksel anlamlılığa güvenmeyin.

- Bazen, klinik bir öneme sahip olmadığında istatistiksel anlamlılığın tespit edildiği durumlar vardır.
- Tersine, olası klinik olarak anlamlı bir fark istatistiksel olarak anlamlı olmayabilir.



Facility Name			ISTANBUL TRAINING AND RESEARCH HOSPITAL (SAMATYA)														
Investigator Name			DR BERRIN BERCIK INAL														
Date			08.04.2016														
Control Tube			SST II		Lot #		Exp Date										
Evaluation Tube			Berricor		Lot #		Exp Date										
Storage Temperature																	
Instrument			BECKMAN C.														
			CAL	5%	10%	10%	10%	10%	0.1 mg/dL (1.7 µmol/L) or 10%	0.3 mg/dL (5.1 µmol/L) or 10%	3.0 mg/dL (1.07 mmol/L) or 10%	0.3 mg/dL (0.075 mmol/L)	3.0 mmol/L	15%	1.0 ng/mL or 20%	0.3 mg/dL (26.5 µmol/L) or 10%	
Sample #	Tube	Interval	Albumin	ALP (alkaline phosphatase)	ALT (alanine aminotransferase)	Amylase	AST (aspartate aminotransferase)	Bilirubin, Direct	Bilirubin, Total	BUN (blood nitrogen urea)	Calcium	Chloride	CK (total)	CKMB (creatine kinase MB fraction)	Creatinine		
1	Berricor	t0															
2	Berricor	t0															
3	Berricor	t0															
4	Berricor	t0															
5	Berricor	t0															
6	Berricor	t0															
7	Berricor	t0															
8	Berricor	t0															
9	Berricor	t0															
10	Berricor	t0															
11	Berricor	t0															
12	Berricor	t0															
13	Berricor	t0															
14	Berricor	t0															
15	Berricor	t0															
16	Berricor	t0															
17	Berricor	t0															
18	Berricor	t0															
19	Berricor	t0															
20	Berricor	t0															
MEAN	Berricor	t0	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!		
1	SST II	t0															
2	SST II	t0															
3	SST II	t0															
4	SST II	t0															
5	SST II	t0															
6	SST II	t0															
7	SST II	t0															
8	SST II	t0															
9	SST II	t0															
10	SST II	t0															
11	SST II	t0															
12	SST II	t0															
13	SST II	t0															
14	SST II	t0															
15	SST II	t0															
16	SST II	t0															
17	SST II	t0															
18	SST II	t0															
19	SST II	t0															
20	SST II	t0															
MEAN	SST II	t0	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!		
ANALYTE																	
BIAS	Berricor - SST II		#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!		
% BIAS	((Berricor - SST II) / SST II) * 100		#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!		
ACCEPTABLE / NOT ACCEPTABLE			#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!	#SAYI/0!		



EFLM Opinion Paper

Giuseppe Lippi, Michael P. Cornes, Kjell Grankvist, Mads Nybo and Ana-Maria Simundic*, on behalf of the Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE), European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)

EFLM WG-Preanalytical phase opinion paper: local validation of blood collection tubes in clinical laboratories

DOI 10.1515/cclm-2015-1274

Accepted for publication January 2, 2016

Abstract: The selection or procurement of blood collection

has drafted a consensus document aimed to provide a set of essential requisites, technical criteria (e.g. presence of physical defects, malfunctioning, safety problems) and clinical issues for supporting laboratory professionals in



**EFLM WG teknik ve klinik lokal validasyon
öneriyor.**



- **Teknik yeterliliđi kontrol için**

Tercihen alışmaya alınacak örnek *sayısı 240 dan az olmamalıdır.*

Kontrol Tüpü (n = 120)

Değerlendirilen Tüp (n = 120)

(CLSI guidelines EP28-A3)



Table 2: Acceptability criteria for technical validation of new blood collection tubes.

Item	Acceptable difference
Tubes with physical defects of manufacturing	<1%
Tubes with no vacuum or that fail to form a vacuum	<1%
Tubes not properly fitting into the blood collection device	<1%
Tubes under filling	<1%
Tubes leaking from the cap before and after centrifugation	<1%
Blood contamination of collection device	<1%
Hemolyzed specimens	<1% ^a
Undue clotting	
EDTA blood tubes	<1%
Sodium citrate blood tubes	<1%
Tubes broken or spilling blood after centrifugation	<1%
Inappropriate positioning of gel separator	<1%
Serum blood tubes with incomplete clotting	<1%

Difference: $\left[\frac{\text{number of comparative tubes}}{120} \right] * 100 - \left[\frac{\text{number of control tubes}}{120} \right] * 100$. ^aWhen causes other than the blood tube (e.g. blood collection device, phlebotomists, sample transportation or patient population) can be excluded.



Klinik Validasyon için;

- 20 den 100 e kadar kişi öneriliyor. Sayının yüksek olmasının daha iyi olacağı belirtiliyor.**



EFLM WG-PRE

İstatistiksel yöntem olarak

Passing ve Bablok regression (ve/veya Deming)
ve Bland and Altman analizi öneriyor.

Eğer iki tüp arasındaki regresyon veya %bias kalite
spesifikasyonlarından daha büyük ise

Önceki tüp sistemini kullanmaya devam edin

VEYA

Yeni tüplere göre yerel referans aralıkları kullanın



Original papers

Preanalytical management: serum vacuum tubes validation for routine clinical chemistry

Gabriel Lima-Oliveira^{1,2,3,4*}, Giuseppe Lippi⁵, Gian Luca Salvagno¹, Martina Montagnana¹, Geraldo Picheth², Gian Cesare Guidi^{1,2}

¹Laboratory of Clinical Biochemistry, Department of Life and Reproduction Sciences, University of Verona, Italy

²Post-Graduate Program of Pharmaceutical Sciences, Department of Medical Pathology Federal University of Parana, Curitiba, Parar Brazil

³MERCOSUL: Sector Committee of Clinical Analyses and in Vitro Diagnostics – CSM 20, Rio de Janeiro, Brazil

⁴Brazilian Society of Clinical Analyses on Sao Paulo State, Brazil

⁵U.O. Diagnostica Ematochimica, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Parma, Italy

*Corresponding author: dr.g.lima.oliveira@gmail.com



TABLE 2. Comprehensive results of routine clinical biochemistry testing from five different brands of serum vacuum tubes with clot activator and gel separator.

Test	Tube I	Tube II	Tube III	Tube IV	Tube V	P value
GLU (mmol/L)*	4.63 (4.45 - 4.76)	4.61 (4.41 - 4.76)	4.61 (4.43 - 4.72)	4.61 (4.40 - 4.76)	4.58 (4.44 - 4.74)	0.178
COL (mmol/L)**	4.64 ± 0.20	4.66 ± 0.20	4.61 ± 0.20	4.64 ± 0.20	4.66 ± 0.20	0.078
HDL (mmol/L)**	1.37 ± 0.08	1.37 ± 0.09	1.35 ± 0.08	1.35 ± 0.09	1.37 ± 0.09	0.041
TG (mmol/L)**	1.39 ± 0.16	1.38 ± 0.16	1.39 ± 0.16	1.39 ± 0.15	1.39 ± 0.15	0.286
TP (g/L)**	73.0 ± 1.0	73.0 ± 1.0	73.0 ± 1.0	73.0 ± 1.0	73.0 ± 1.0	0.432
ALB (g/L)**	42.0 ± 1.0	42.0 ± 1.0	42.0 ± 1.0	42.0 ± 1.0	42.0 ± 1.0	0.155
UREA (mmol/L)**	11.0 ± 0.8	10.9 ± 0.7	10.9 ± 0.7	10.9 ± 0.7	10.9 ± 0.7	0.450
CRE (µmol/L)*	67.2 (57.5 - 76.0)	67.2 (56.6 - 76.0)	62.8 (53.9 - 76.0)	69.0 (60.1 - 78.7)	68.1 (60.1 - 76.9)	< 0.001
AU (µmol/L)*	273.6 (220.1 - 315.2)	273.6 (220.1 - 315.2)	4.5 (220.1 - 315.2)	273.6 (220.1 - 315.2)	273.6 (220.1 - 321.2)	0.736
ALP (U/L)**	70.0 ± 3.8	69.8 ± 3.6	70.4 ± 3.8	70.6 ± 3.8	70.1 ± 3.8	0.322
AMYL (U/L)**	66.6 ± 5.6	71.0 ± 5.9	61.4 ± 5.2	65.2 ± 5.4	63.2 ± 5.4	< 0.001
AST (U/L)**	23.2 ± 1.2	23.3 ± 1.3	23.6 ± 1.3	23.7 ± 1.3	23.6 ± 1.3	0.260
ALT (U/L)*	24.5 (17.2 - 35.0)	23.5 (18.5 - 34.0)	22.0 (17.5 - 36.5)	25.0 (16.8 - 32.8)	23.5 (16.8 - 35.5)	0.026
GGT (U/L)*	23.0 (17.0 - 35.0)	22.5 (16.2 - 34.0)	23.0 (17.0 - 34.2)	24.0 (16.2 - 34.0)	23.0 (17.0 - 34.2)	0.003
LDH (U/L)**	407 ± 12.4	404 ± 13.8	416 ± 12.2	412 ± 11.4	414 ± 11.4	0.039
CK (U/L)*	71 (50 - 142)	71 (50 - 140)	70 (53 - 142)	70 (53 - 144)	72 (54 - 148)	0.051
BT (µmol/L)*	8.55 (6.33 - 10.09)	8.21 (6.33 - 9.92)	8.55 (5.98 - 9.40)	8.38 (6.50 - 9.58)	8.21 (5.64 - 9.58)	0.216
BD (µmol/L)**	2.22 ± 0.34	2.39 ± 0.17	2.05 ± 0.34	2.22 ± 0.34	2.05 ± 0.34	0.417
P (mmol/L)**	1.24 ± 0.04	1.23 ± 0.04	1.24 ± 0.04	1.25 ± 0.03	1.25 ± 0.04	0.044
CA (mmol/L)**	2.36 ± 0.02	2.34 ± 0.02	2.34 ± 0.02	2.34 ± 0.02	2.34 ± 0.02	0.119
MG (mmol/L)**	0.82 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02	0.78 ± 0.02	< 0.001
FE (µmol/L)*	18.0 (15.5 - 19.9)	18.0 (15.2 - 19.3)	18.0 (15.5 - 20.0)	18.3 (15.4 - 19.8)	18.0 (15.3 - 19.6)	0.293
NA (mmol/L)*	138.0 (138.0 - 139.0)	139.0 (138.0 - 139.0)	139.0 (138.0 - 139.8)	139.0 (138.0 - 139.0)	139.0 (138.0 - 139.8)	0.265
K (mmol/L)**	4.30 ± 0.06	4.24 ± 0.06	4.24 ± 0.05	4.27 ± 0.06	4.27 ± 0.05	0.095



TABLE 1. Variability in routine clinical biochemistry testing from five different brands of serum vacuum tubes with clot activator and gel separator.

Tests	Desirable Bias (%)	CVa	Mean % difference (P value)									
			Tube I vs.				Tube II vs.			Tube III vs.		Tube IV vs.
			Tube II	Tube III	Tube IV	Tube V	Tube III	Tube IV	Tube V	Tube IV	Tube V	Tube V
CRE*	3.8	2.5	0.0 (0.234)	6.6 (0.038)	-2.7 (0.001)	-1.3 (0.032)	6.6 (0.019)	-2.7 (0.001)	-1.3 (0.022)	-9.9 (0.001)	-8.4 (0.013)	1.3 (0.008)
AMYL**	7.4	0.8	-6.6 (0.001)	7.8 (0.001)	2.1 (0.003)	5.1 (0.001)	13.5 (0.001)	8.2 (0.001)	11.0 (0.001)	-6.2 (0.001)	-2.9 (0.002)	3.1 (0.001)
P**	3.2	3.0	0.8 (0.107)	0.0 (0.104)	-0.8 (0.876)	-0.8 (0.856)	-0.8 (0.002)	-1.6 (0.001)	-1.6 (0.001)	-0.8 (0.429)	-0.8 (0.667)	0.0 (0.331)
MG**	1.8	1.2	4.9 (0.001)	4.9 (0.001)	4.9 (0.001)	4.9 (0.001)	0.0 (0.666)	0.0 (0.666)	0.0 (0.666)	0.0 (1.000)	0.0 (1.000)	0.0 (1.000)
ALT*	12.0	1.3	4.1 (0.887)	10.2 (0.981)	-2.0 (0.841)	4.1 (0.173)	6.4 (0.353)	-6.4 (0.386)	0.0 (0.130)	-13.6 (0.043)	-6.8 (0.182)	6.0 (0.113)

* Non-normal distribution; P value represents the significance by Wilcoxon ranked-pairs test.

** Normal distribution; P value represents the significance by paired Student's t-test.

The bold P values are statistically significant ($P < 0.005$) and bold mean % differences represent clinically significant variations, when compared with desirable bias (15).

Tube I: VACUETTE® 4.0 mL (lot C080818, Greiner bio-one, Kremsmünster, Austria); Tube II: LABOR IMPORT® 6.0 mL (lot C38005-6, Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, Zhejiang, China); Tube III: S-Monovette® 4.9 mL (lot 8092506, Sarstedt, Nümbrecht, Germany); Tube IV: SST® 4.0 mL (lot 8308434, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA); Tube V: SST II Advance® 5.0 mL (lot 8225174, Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA).

CVa (%): Analytical coefficient (within-run precision), by internal quality control on cobas® 6000 <c501> module.

CRE - creatinine; AMYL - amylase; P - phosphate; MG - magnesium; ALT - alanine aminotransferase.

- www.Analyse-it.com
- www.datainnovations.com
- www.clsi.org
- www.medcalc.org
- www.minitab.com
- www.westgard.com

