Stabilisation des échantillons aux sites de collectes externes (centrifugation)

Rédigé par :	Vickie Simard, coordonnatrice technique	le :	2016-04-26
Vérifié par :	Karine Ouellet, assistante-chef laboratoire hématologie	le :	2016-04-26
	Marie-Josée Dufour, coordonnatrice régionale à la qualité des laboratoires et EBMd		2017-05-11
Approuvé par :	Dr Daniel Deslauriers, Médecin-Biochimiste et Chef du service de biochimie médicale		2017-05-11
	Dr Frédéric Bouchard, Biochimiste clinique, PhD		2017-05-11

1. Introduction

- Uniformiser les directives de stabilisation pour la préparation des échantillons destinés à être analysés au laboratoire.
- Déterminer les délais d'acheminement et la conservation des échantillons destinés aux laboratoires
- Assurer la sécurité du personnel impliqué dans la préparation des échantillons.

2. Domaine d'application

La centrifugation permet de stabiliser les tubes de prélèvements sanguins, permettant ainsi de limiter la dégradation des éléments qui doivent être analysés, d'augmenter le délai maximal pour faire l'analyse et d'assurer des résultats de qualité.

La centrifugation permet aussi de séparer les composantes cellulaires (globules rouges, globules blancs et plaquettes) de la composante non cellulaire du sang (sérum ou plasma).

La centrifugation est essentielle puisque beaucoup d'analytes de laboratoire sont instables dans le sang entier mais plus stables dans le sérum ou le plasma. Il est donc important que la centrifugation soit bien exécutée pour assurer des résultats de qualité.

Le non-respect de la centrifugation des échantillons pourrait entraîner le rejet de ceux-ci et occasionner une reprise des prélèvements.

3. Principe

Comme les rotors des centrifugeuses sont soumis à des forces importantes, il est essentiel d'équilibrer le poids autour de l'axe de rotation des rotors. Pour ce faire, le poids des tubes disposés un en face de l'autre dans les godets de la centrifugeuse doit être similaire. On parle alors d'équilibrer les tubes à centrifuger. Un tube doit être équilibré par un autre tube de même grosseur et contenant un volume équivalent de liquide.

Les tubes de prélèvement à bouchon jaune doit reposer 30 minutes suite à la ponction veineuse et avant la centrifugation afin de permettre la coagulation complète de l'échantillon (formation d'un caillot).

Il n'est pas nécessaire de laisser reposer un tube de prélèvement à bouchon vert lime (Barricor™) avant de procéder à sa centrifugation puisqu'il y a présence d'inhibiteur de la coagulation dans le tube (aucune production de caillot).

4. Documents Connexes

AM-AQR-018 Stabilisation (centrifugation) des échantillons

5. Abréviations / Définitions

Centrifugation : Procédé de séparation des composés d'un mélange en fonction de leur différence de densité en les soumettant à une force centrifuge.

Conservation : Processus par lequel des échantillons sont maintenus dans des conditions contrôlées appropriées.

Échantillon : Échantillon (sang, urine, selles, liquides biologiques, tissus) prélevé du patient ou par le patient, qui est encore dans son contenant de collecte d'origine et qui sera utilisé aux fins d'analyses en laboratoires. Le terme *échantillon* dans ce document réfère aux échantillons primaires et les aliquotes.

ÉPI : Équipement de protection individuelle

Laboratoire serveur : Laboratoire désigné pour effectuer les analyses des spécimens en provenance de sites externes

Laboratoire associé : Laboratoire qui répond au besoin de suivi clinique rapide (STAT) et qui stabilise et prépare les échantillons ou spécimens en provenance de sites externes pour envoi au laboratoire serveur.

Non-conformité : Tout évènement défini comme une erreur ou un manquement pouvant affecter la qualité du travail, le résultat d'une analyse, qui peut se produire dans le processus d'analyse et qui ne correspond pas aux critères de qualité.

Stabilisation : Méthode ou étapes appliquées après la collecte de l'échantillon et avant l'analyse pour limiter ou prévenir la dégradation de l'élément à analyser dans l'échantillon.

Site de collecte externes : Tout organisme ou personne qui prélève des échantillons, incluant, sans toutefois s'y limiter, les hôpitaux et les centres de collecte associés, les collectes au chevet du patient dans les centres hospitaliers ou dans tout autre établissement de santé, les services de collecte privés et publics, les bureaux de médecins et les collectes à domicile.

6. Instructions

6.1 Sécurité

Toujours appliquer les règles de précautions universelles, c'est-à-dire considérer que les liquides biologiques humains comportent des risques d'infection même en l'absence de preuve de la présence d'agent infectieux.

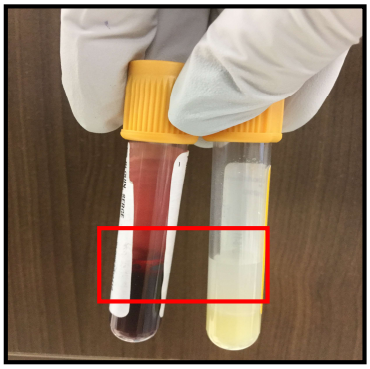
Le port des gants est donc fortement recommandé pour la manipulation des tubes avant et après la centrifugation.

6.2 Équilibrer

Les tubes placés dans les godets à l'intérieur de la centrifugeuse doivent toujours être équilibré avec des tubes équivalents. Deux options sont possibles :

- Utiliser deux tubes de sang ayant le même volume de liquide (même hauteur dans le tube).
- Utiliser un tube égalisateur contenant le même volume de liquide que le tube de sang.

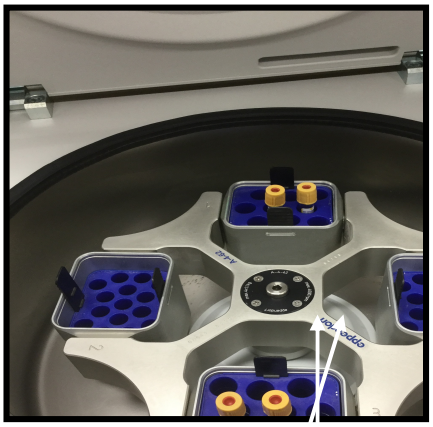
Il est possible de préparer d'avance des tubes égalisateurs. Pour ce faire, simplement prendre des tubes vides et les remplir avec de l'eau. Ces derniers pourront être utilisés lorsque requis lors du chargement des godets dans la centrifugeuse.



6.4 Centrifuger

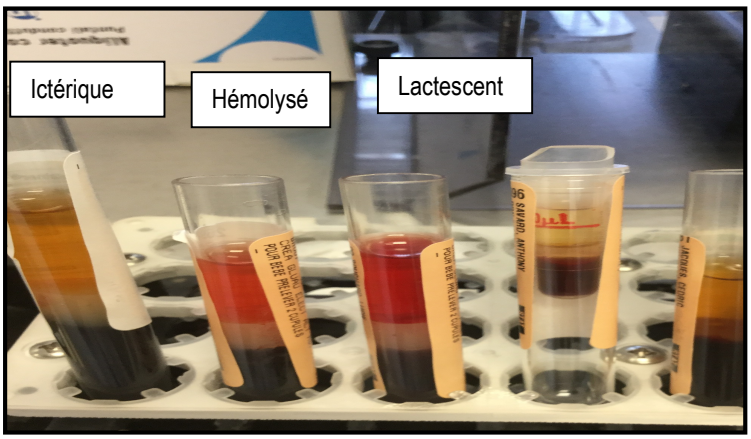
Placer les tubes à centrifuger dans les godets de la centrifugeuse. Y installer tous les tubes à centrifuger et équilibrer avec un tube de même volume dans la position opposée du godet qui lui fait face.

<u>Les godets qui se font face doivent être remplis de façon miroir afin d'éviter le débalancement de la centrifugeuse et entraîner le bris de tubes ou de l'équipement.</u>



Procédure de centrifugation	
1	Attendre 30 minutes après la ponction avant de centrifuger les tubes jaunes. Aucune attente n'est nécessaire pour les tubes Barricor™ vert lime.
2	Équilibrer la centrifugeuse avec des tubes de même grosseur / volume.
3	Fermer le couvercle de la centrifugeuse.
4	Barrer la centrifugeuse si celle-ci le permet.
5	Centrifuger les tubes 10 minutes à une vitesse de 2000 g.
6	Respecter le temps de centrifugation et attendre que le rotor soit immobilisé avant d'ouvrir la centrifugeuse.
7	Manipuler délicatement les tubes centrifugés.
8	Placer les tubes à une température entre 4 et 8°C.

À la sortie de la centrifugeuse, le sérum/plasma sera séparé des globules rouges. Le sérum ou le plasma peut se présenter selon plusieurs aspects : hémolysé, ictérique, lactescent ou normal (jaunâtre).



6.5 Calculer la vitesse de centrifugation

À titre informatif, voici la formule permettant de calculer la vitesse de centrifugation.

g= la force relative de centrifugation

r = le rayon de rotation du rotor (en cm)

N= (rotations par minute, RPM) exprime la vitesse de rotation

$$N = \sqrt{\frac{g}{(1.119 \bullet 10^{-5} \bullet r)}}$$

7. Responsabilité

Personnel préleveur (sites de collecte externes)

- Maîtriser les étapes en vue de la préparation et la stabilisation des échantillons afin de ne pas compromettre la qualité des analyses.

Laboratoire destinataire

- Déclarer les non-conformités relatives aux prélèvements.
- Signaler au site de collecte externe les non-conformités relatives aux prélèvements.

8. Références

CSA 15189 :12 Normes ISO. Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence, 2012.

CSA Z316.7-12 Établissements effectuant la collecte d'échantillons primaires et laboratoires d'analyses de biologie médicale — Sécurité du patient et qualité des soins — Exigences pour la collecte, le transport et la conservation des échantillons, mars 2013

Guide de gestion de la qualité dans les laboratoires de biologie médicale, OPTMQ, 3e édition, 2017.

La Sécurité au laboratoire, Directives de la SCSLM, septième édition, 2012. Gene SHEMATEK, CIH ROH Msc(A), Wayne WOOD, CIH ROH MSc(A).

Guide sur le transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale, Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec, Aout 2019

9. Historique des versions

Version	Rédigé par :	Autorisé par :	Raison de la révision	Entrée en vigueur	Archivé le :
01	Vickie Simard coordonnatrice technique	Dr Daniel Deslauriers Chef de service régional du laboratoire de biochimie Dr Frédéric Bouchard, Biochimiste Clinique	*Ce document remplace la procédure suivante : DOC-PR-01.01_centrifugation* *Mise à jour du gabarit*	1er mai 2018	2020-02-10
01.1	Dr Frédéric Bouchard, Biochimiste Clinique		*Correction apportée page 4, point 5 dans tableau : … minimum de 1300 g* *Harmonisation de la nomenclature*	10 février 2020	2021-07-01
01.2	Dr Frédéric Bouchard, Biochimiste		*Correction apportée page 2 et 4 : tube Barricor à bouchon vert lime et point 5*	1er juillet 2021	2023-06-12

Version	Rédigé par :	Autorisé par :	Raison de la révision	Entrée en vigueur	Archivé le :
	Clinique		*dans tableau : … minimum de 2000 g* *Page 5 : ajout de la précision vert foncé au point 5.5.1*		
02	Sophie Roy, conseillère qualité	Dr Frédéric Bouchard, Biochimiste Clinique	*Révision complète suite à l'ajout d'un aide-mémoire pour la centrifugation AM-AQR-018*	2023-06-12	

10. Révision et nom du fichier

La personne soussignée a revu cette politique/procédure à la date indiquée et l'a reconduite sans modification.

DATE	SIGNATURE DU RESPONSABLE