

Synthèse pour une Standardisation des Conditions de Centrifugation

JUILLET 2016

Afin d'obtenir un protocole de centrifugation standardisé, cette synthèse regroupe les conditions de centrifugation des tubes BD Vacutainer® obtenues à partir :

- des travaux menés par BD et d'études publiées,
- des recommandations d'institutions référentes internationales,^{1,2}
- des recommandations d'utilisation des tubes BD Vacutainer®.³

Dans le cadre de l'accréditation, ce document fait office de recommandation fournisseur.

Ces préconisations sont des données générales avec rotor horizontal, et peuvent être différentes pour des paramètres nécessitant des conditions de centrifugation spécifiques (force/durée/température). Il est recommandé de se référer aux fiches techniques des méthodes analytiques de vos fournisseurs de tests. La durée de centrifugation comprend les phases d'accélération et de décélération.

Tubes BD Vacutainer®	Délai minimum avant centrifugation	Force (g)	Durée (min)	Température (°C)	Exemples de conditions alternatives
 SST™II Advance	30 min*	1300 - 2000 ^{3,4}	10	18 - 25 ^{3,5}	3000g, 5min ⁶ 3000g, 10min ^{7,8}
 CAT (Silice)	60 min*	1300 - 2000 ^{1,2,3,4,9}	10	15 - 24 ^{1,2}	3000g, 10min ⁷
 PST™II	-	1300 - 2000 ³	10	18 - 25 ^{3,5}	3000g, 5min ¹⁰ 3000g, 10min ⁸
 Héparine (lithium and sodium)	-	1300 - 2000 ^{1,2,3,4,11,12}	10	15 - 24 ^{1,2}	3000g, 10min ^{7,8,13}
 EDTA	-	1300 - 2000 ^{1,2,4,14}	10	15 - 24 ^{1,2}	3000g, 10min ¹⁵
 Fluorure / Oxalate ou EDTA	-	1300 - 2000 ^{1,2,3,4,16}	10	15 - 24 ^{1,2}	3000g, 10min ¹⁷

Proposition de centrifugation standardisée

     	Variable selon le type de tube	1300 - 2000	10	18 - 24	3000g, 10min
--	--------------------------------	-------------	----	---------	--------------

* Pour échantillons issus de patients sans traitement anticoagulant. Vérifier la prise en masse du caillot avant de centrifuger.

Recentrifugation : les tubes avec séparateur ne devraient pas être recentrifugés une fois la barrière formée.¹⁸

En complément, se référer aux recommandations du CLSI, H18-A4, § 5.4.3 Recentrifugation ou à des références bibliographiques.

Centrifugation pour tests d'hémostase

Tubes BD Vacutainer®	Recommandations BD Force / Durée	Recommandations GFHT Conditions standard ¹⁹	Exemples de conditions alternatives Force / Durée / Température
 Citrate 9NC en verre CTAD en verre	1500g, 15min ³	15 - 25°C	1700g au moins 10min ²¹
 Citrate 9NC en polymères	2000g - 2500g, 10 - 15min ^{3,20}	1500 à 2000g ET au moins 15 min ou 2000 à 2500g ET au moins 10 min	3000g, 10min ^{22,23} (tubes en verre : voir verso § précautions)

A noter : une double centrifugation reste la méthode privilégiée pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes (<10 G/L)¹⁹.



Rappel

La Force Centrifuge Relative (RCF) est liée à la vitesse de centrifugation (rpm) par l'équation suivante :

$$\text{rpm} = \sqrt{\frac{\text{RCF} \times 10^5}{1.12 \times r}}$$

où "r", exprimé en cm, est la distance radiale entre l'axe central de la centrifugeuse et le fond du tube.

Précautions¹⁸

Centrifugeuse à plots mobiles :

Il est recommandé de ne pas dépasser une force relative de centrifugation de 2 200 g avec des tubes en verre et 10 000 g pour des tubes en polymères.

Référentiels

1. CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute et KIELCHLE, Frederick L et al. EDITION, Approved Guideline-Fourth, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, H18-A4, 2010. Clinical Laboratory Standards Institute.
2. World Health Organization / Organisation Mondiale de la

Références bibliographiques

4. ODDOZE, Christiane, LOMBARD, Elise, et PORTUGAL, Henri. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. Clinical biochemistry, 2012, vol. 45, no 6, p. 464-469.
5. TANNER, Melissa, KENT, Neil, SMITH, Brian, et al. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. Annals of Clinical Biochemistry, 2008, vol. 45, no 4, p. 375-379
6. BD, Becton Dickinson and Company, Etude menée par BD. Performance of BD Vacutainer® SST™II Advance Tubes at Four and Five Minute Centrifugation Times. VS7228, 2006.
7. O'KEANE, Myra P. et CUNNINGHAM, Sean K. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use. Clinical Chemical Laboratory Medicine, 2006, vol. 44, no 5, p. 662-668.
8. WEI, Yuan-hua, ZHANG, Chun-bing, YANG, Xue-wen, et al. The feasibility of using lithium-heparin plasma from a gel separator tube as a substitute for serum in clinical biochemical tests. Laboratory Medicine, 2010, vol. 41, no 4, p. 215-219.
9. NOSANCHUK, Jerome S. False increases of troponin I attributable to incomplete separation of serum. Clinical chemistry, 1999, vol. 45, no 5, p. 714-714.
10. BD, Becton Dickinson and Company, Etude menée par BD. Performance of BD Vacutainer® PST™II Tubes at Four and Five Minute Centrifugation. VS7513, 2006.
11. CAULIEZ, B., REDONNET, M., DARRAS, S., et al. Troponine Ic et CK-MB masse en chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle. Annales de Biologie Clinique. 2004. p. 41-46.
12. SADEG, N., JOURDAIN, P., DUMONTET, M., et al. Cinétique de la troponine I cardiaque (TnIc) après angioplastie et intérêt de la TnIc dans l'angor instable. Annales de Biologie Clinique. 2001. p. 323-8.
13. STAHL, Marta et BRANDSLUND, Ivan. Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood. Clinical Chemical Laboratory Medicine, 2005, vol. 43, no 2, p. 210-215.

Réglette disponible sur demande.

Indique la correspondance entre force et vitesse de rotation, en fonction du rayon de la centrifugeuse.



Exemple :

La vitesse de rotation à appliquer pour l'obtention d'une force de 2000 g, est de 3000 rpm, pour un rayon de 20 cm.

Santé. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002. http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_DIL_LAB_99_1_Rev.2.pdf

3. Recommandations d'utilisation des tubes BD Vacutainer® (Insert boîte de 100 tubes).

14. PEREIRA, Marta, AZEVEDO, Ana, SEVERO, Milton, et al. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide after storage at -20° C or -80° C. Clinical chemistry and laboratory medicine, 2008, vol. 46, no 8, p. 1171-1174.

15. COLAK, Ayfer, TOPRAK, Burak, DOGAN, Nese, et al. Effect of sample type, centrifugation and storage conditions on vitamin D concentration. Biochemia medica, 2013, vol. 23, no 3, p. 321-325.

16. BD, Becton Dickinson and Company, Etude menée par BD. Evaluation of the Effects on Glucose and Lactate Using Two Different Centrifugation Forces in a Range of BD Vacutainer® Glucose Tubes Over Time. VS8899, 2011.

17. WU, Alan HB, TIETZ. Clinical guide to laboratory tests. Elsevier Health Science, 2006.

18. Insert Tubes BD Vacutainer® VDP40161-WEB-01 - 09/2012.

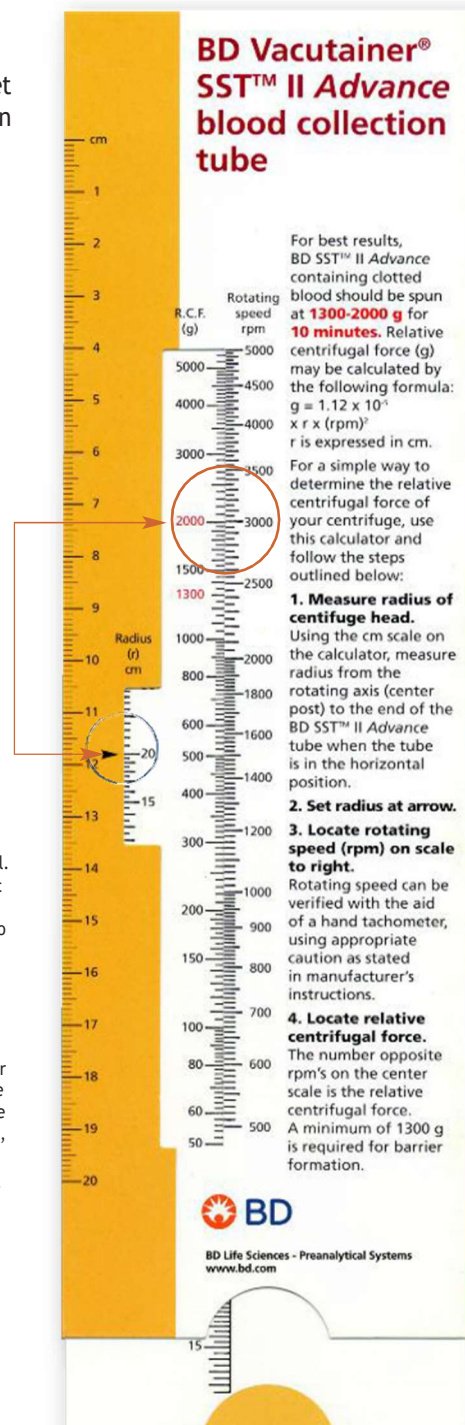
19. Groupe Français d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT). Recommandations GFHT, Variables Préanalytiques. 2015. www.geht.org (consultation en date du 21/01/2016).

20. BARNES, P. W., EBY, C. S., et LUKOSZYK, M. Residual platelet counts in plasma prepared for routine coagulation testing with the Beckman Coulter power processor. Laboratory Hematology, 2002, vol. 8, no 4, p. 205-209.

21. KITCHEN, Steve, MCCRAW, Angus, et ECHENAGUCIA, Marión. Diagnosis of hemophilia and other bleeding disorders. A laboratory manual. World Federation of Hemophilia, 2010.

22. FENG, Limin, ZHAO, Ying, ZHAO, Hongcan, et al. Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma. Scientific reports, 2014, vol. 4.

23. ZHAO, Y. et LV, G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. International journal of laboratory hematology, 2013, vol. 35, no 5, p. 566-570.



Complément d'information sur la centrifugation de manière générale :

Se référer au Guide Technique du Collège Français de Métrologie, Mise en œuvre de la métrologie dans les laboratoires de biologie médicale, Chapitre Centrifugation, juin 2016.

Attention :

Tout changement d'une des caractéristiques des tubes à prélèvement (type, taille, ...), des conditions préanalytiques (conditions de conservation, ...) et analytiques devrait être validé par le laboratoire dans son environnement pour les différents paramètres, soit à partir de la documentation fournie par le fabricant, soit à partir des données de validation réalisées par le laboratoire.

Pour en savoir plus : vacutainerfr@bd.com

BD, Le Pont de Claix, 38800, FR

bd.com/fr

Becton Dickinson France S.A.S. Société par Actions Simplifiée au capital de 62 823 000 euros. RCS Grenoble B 056 501 711.

© 2016 BD. BD, le logo BD et toutes les autres marques sont la propriété de Becton, Dickinson and Company. Fiche_PA_Centrifugation_07/16 - AB•Com 38190



Le Pont de Claix, le 09/08/2016

Objet : Synthèse pour une standardisation des conditions de centrifugation

Madame, Monsieur,

Nous vous remercions de la confiance que vous accordez à BD et vous prions de bien vouloir trouver, dans ce courrier, une synthèse des documents et publications internationales, permettant aux utilisateurs de nos tubes de prélèvements sanguins de travailler vers une harmonisation et une standardisation des conditions de centrifugation.

Les éléments vous étant présentés dans ce courrier sont également publiés sur notre nouvelle technique de centrifugation, version Juillet 2016, qui est disponible au téléchargement sur notre portail BD AccrediWorld Préanalytique (voir ci-après).

Afin de proposer une condition de centrifugation standardisée, vous verrez que cette synthèse regroupe les conditions de centrifugation des tubes BD Vacutainer® obtenues à partir :

- des travaux menés par BD et d'études publiées,
- des recommandations d'institutions référentes internationales,^{1,2}
- des recommandations d'utilisation des tubes BD Vacutainer®.³

Sur la base de ces documents, il est possible pour les utilisateurs de travailler avec une condition de centrifugation standardisée, se situant dans la plage de force (g) de 1700 à 3000g, pendant 10min, à une température se situant entre 18 et 24°C.

Force et durée de centrifugation.



- Les tubes SST™II Advance peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g^{3,4}, pendant 10min, et selon des publications récentes, et des études internes, il a été démontré que ces tubes peuvent être centrifugés à 3000g 5min⁵, ainsi qu'à 3000g 10min^{6,7}.



- Les tubes CAT (Silice) peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g^{1,2,3,4,8}, pendant 10min, et selon des publications récentes, il a été démontré que ces tubes peuvent être également centrifugés à 3000g 10min⁶.



- Les tubes PST™II peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g³, pendant 10min, et selon des publications récentes, et des études internes, il a été démontré que ces tubes peuvent être centrifugés à 3000g 5min⁹, ainsi qu'à 3000g 10min⁷.



- Les tubes Heparine de Lithium (Silice) peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g^{1,2,3,4,10,11}, pendant 10min, et selon des publications récentes, il a été démontré que ces tubes peuvent être également centrifugés à 3000g 10min^{6,7,12}.



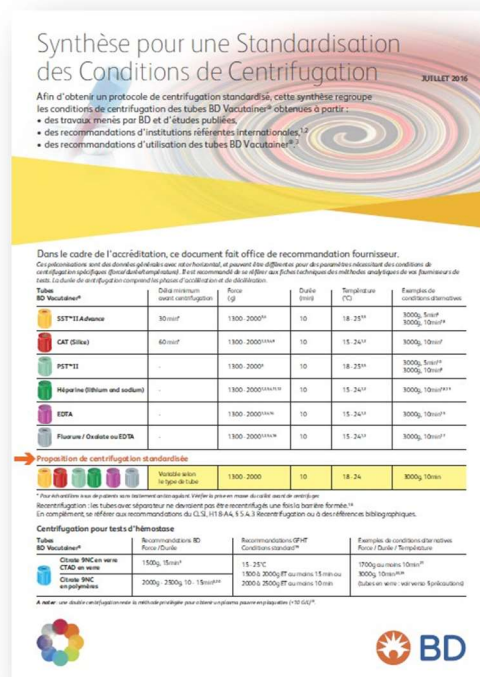
- Les tubes Fluorure / Oxalate ou EDTA peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g^{1,2,3,4,13}, pendant 10min, et selon des publications récentes, il a été démontré que ces tubes peuvent être également centrifugés à 3000g 10min¹⁴.



- Les tubes EDTA peuvent être centrifugés de 1300 à 2000g^{1,2,3,4,15}, pendant 10min, et selon des publications récentes, il a été démontré que ces tubes peuvent être également centrifugés à 3000g 10min¹⁶.



- Les tubes Citrate 9NC en verre, CTAD en verre, peuvent être centrifugés à 1500g 15min³, et les tubes Citrates 9NC en polymères peuvent être centrifugés de 2000 à 2500g^{3,18}, pendant 15min. Les nouvelles recommandations du GFHT publiées en Janvier 2016, préconisent maintenant des conditions standard¹⁷ de centrifugation de 1500 à 2000g et au moins 15min, ou 2000 à 2500g et au moins 10min. Des publications récentes ont fait évoluer ces possibilités de conditions de centrifugation en proposant des conditions alternatives allant de 1700g 10min¹⁹, à 3000g 10min^{20,21}.



En tenant compte de ces éléments publiés dans la littérature, il est aujourd'hui possible d'harmoniser pour tous les tubes cités ci-dessus les conditions de centrifugation, en choisissant un seul protocole de centrifugation entre 1700 et 3000g, pendant 10min, à une température se situant entre 18 et 24°C.

Pour plus d'information sur les possibilités et la façon de choisir un protocole de centrifugation, vous pouvez vous référer au Guide Technique du Collège Français de Métrologie, Mise en œuvre de la métrologie dans les laboratoires de biologie médicale, Chapitre Centrifugation, juin 2016.

Température de centrifugation

Notre synthèse sur la centrifugation fait référence à un **intervalle de température** documenté dans la littérature, pour une grande partie des examens, préservant l'intégrité des échantillons biologiques sanguins. Ainsi sur la base des éléments notamment que nous vous citons ci-dessous, nous recommandons une plage de température de centrifugation de : 18-24°C.

Le référentiel CLSI H18-A4¹ mentionne une limite basse de température de 15°C pour les examens, qui sont impactés par de faibles températures. De la même façon le CLSI, mentionne plusieurs études dans lesquelles différentes plages de températures ont été testées allant pour la majorité des examens mentionnés jusqu'à 24°C. Dans ce même référentiel, dans le paragraphe des températures de centrifugation, il est mentionné qu'une température inférieure à 15°C peut affecter les résultats du bilan potassique au terme de deux heures, entre autre, d'où la nécessité de pouvoir utiliser des conditions de centrifugation avec maîtrise de température.

De récents éléments de la littérature ont permis de documenter également d'autres conditions de température de centrifugation fonctionnant avec les tubes séparateurs de type SST™II *Advance*, conditions permettant d'assurer la migration du séparateur acrylique sur une plage de température de centrifugation de 18°C à 25°C²².

De part ces éléments, et les autres ressources bibliographiques listées par le CLSI, nous recommandons une température de centrifugation de l'échantillon de 18 à 24°C, de façon à assurer une migration optimale du séparateur pour les tubes concernés, et d'assurer une préservation de l'intégrité des échantillons biologique* en vue d'obtenir des résultats biologiques de qualité.

*hors examens recommandés à une température spécifique, dépendant des conditions de conservations durant la phase de pré-centrifugation.

Disponibilité de la note technique

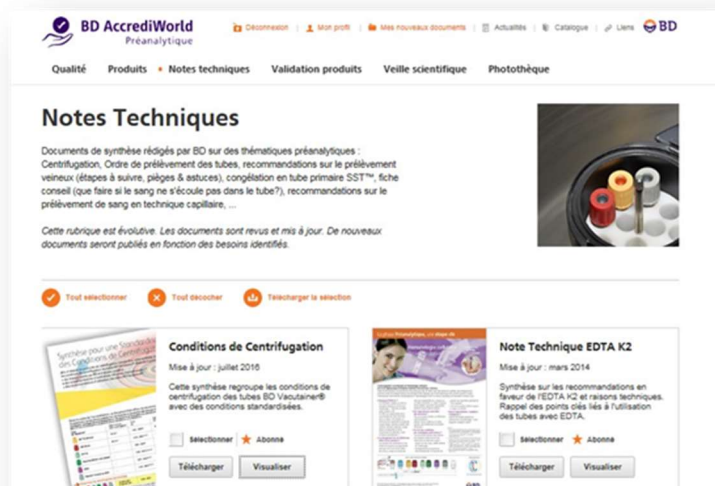
Cette note technique est publiée sur notre portail **BD AccrediWorld Préanalytique**. Ce portail documentaire www.bdaccrediworld-preanalytique.fr vous permet d'accéder simplement à l'information à jour relative aux produits BD Vacutainer® que vous utilisez et vous apporte une réponse optimale pour la gestion de la documentation fournisseur.

Il permet aux utilisateurs de **bénéficier d'un accès à l'ensemble des documents** pour supporter les laboratoires dans la rédaction de leurs protocoles et du manuel de prélèvement : documents qualité généraux, fiches techniques, FDS, certificats par lot, notes techniques, bases documentaires, accès à une base de visuels produits afin d'illustrer votre manuel de prélèvement, ...

Note complémentaire : Ces préconisations sont des données générales avec rotor horizontal, et peuvent être différentes pour des paramètres nécessitant des conditions de centrifugation spécifiques (force/durée/température). Il est recommandé de se référer aux fiches techniques des méthodes analytiques de vos fournisseurs de tests. La durée de centrifugation comprend les phases d'accélération et de décélération.

Recentrifugation : les tubes avec séparateur ne devraient pas être recentrifugés une fois la barrière formée²³.

En complément, se référer aux recommandations du CLSI, H18-A4, § 5.4.3 Recentrifugation ou à des références bibliographiques.

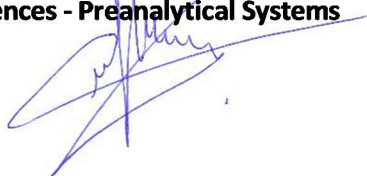


Sources Bibliographiques et Référentiels

1. CLSI - Clinical Laboratory Standards Institute et KIELCHLE, Frederick L et al. EDITION, Approved Guideline—Fourth. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, H18-A4, 2010. Clinical Laboratory Standards Institute.
2. World Health Organization / Organisation Mondiale de la Santé. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002. http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_DIL_LAB_99.1_Rev.2.pdf
3. Recommandations d'utilisation des tubes BD Vacutainer® (Insert boîte de 100 tubes).
4. ODDOZE, Christiane, LOMBARD, Elise, et PORTUGAL, Henri. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clinical biochemistry*, 2012, vol. 45, no 6, p. 464-469.
5. BD, Becton Dickinson and Company. Performance of BD Vacutainer® SST™II Advance Tubes at Four and Five Minute Centrifugation Times. VS7228, 2006.
6. O'KEANE, Myra P. et CUNNINGHAM, Sean K. Evaluation of three different specimen types (serum, plasma lithium heparin and serum gel separator) for analysis of certain analytes: clinical significance of differences in results and efficiency in use. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, 2006, vol. 44, no 5, p. 662-668.
7. WEI, Yuan-hua, ZHANG, Chun-bing, YANG, Xue-wen, et al. The feasibility of using lithium-heparin plasma from a gel separator tube as a substitute for serum in clinical biochemical tests. *Laboratory Medicine*, 2010, vol. 41, no 4, p. 215-219.
8. NOSANCHUK, Jerome S. False increases of troponin I attributable to incomplete separation of serum. *Clinical chemistry*, 1999, vol. 45, no 5, p. 714-714.
9. BD, Becton Dickinson and Company, Etude menée par BD. Performance of BD Vacutainer® PST™II Tubes at Four and Five Minute Centrifugation. VS7513, 2006.
10. CAULIEZ, B., REDONNET, M., DARRAS, S., et al. Troponine Ic et CK-MB masse en chirurgie cardiaque sous circulation extracorporelle. *Annales de Biologie Clinique*. 2004. p. 41-46.
11. SADEG, N., JOURDAIN, P., DUMONTET, M., et al. Cinétique de la troponine I cardiaque (TnIc) après angioplastie et intérêt de la TnIc dans l'angor instable. *Annales de Biologie Clinique*. 2001. p. 323-8.
12. STAHL, Marta et BRANDSLUND, Ivan. Controlled storage conditions prolong stability of biochemical components in whole blood. *Clinical Chemical Laboratory Medicine*, 2005, vol. 43, no 2, p. 210-215.
13. BD, Becton Dickinson and Company. Evaluation of the Effects on Glucose and Lactate Using Two Different Centrifugation Forces in a Range of BD Vacutainer® Glucose Tubes Over Time. VS8899, 2011.
14. WU, Alan HB. TIETZ. *Clinical guide to laboratory tests*. Elsevier Health Science, 2006.
15. PEREIRA, Marta, AZEVEDO, Ana, SEVERO, Milton, et al. Long-term stability of endogenous B-type natriuretic peptide after storage at -20° C or -80° C. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 2008, vol. 46, no 8, p. 1171-1174.
16. COLAK, Ayfer, TOPRAK, Burak, DOGAN, Nese, et al. Effect of sample type, centrifugation and storage conditions on vitamin D concentration. *Biochemia medica*, 2013, vol. 23, no 3, p. 321-325.
17. Groupe Français d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose (GFHT). *Recommandations GFHT, Variables Préanalytiques*. 2015. www.geht.org (consultation en date du 21/01/2016).
18. BARNES, P. W., EBY, C. S., et LUKOSZYK, M. Residual platelet counts in plasma prepared for routine coagulation testing with the Beckman Coulter power processor. *Laboratory Hematology*, 2002, vol. 8, no 4, p. 205-209.
19. KITCHEN, Steve, MCCRAW, Angus, et ECHENAGUCIA, Marión. *Diagnosis of hemophilia and other bleeding disorders. A laboratory manual*. World Federation of Hemophilia, 2010.
20. FENG, Limin, ZHAO, Ying, ZHAO, Hongcan, et al. Effects of storage time and temperature on coagulation tests and factors in fresh plasma. *Scientific reports*, 2014, vol. 4.
21. ZHAO, Y. et LV, G. Influence of temperature and storage duration on measurement of activated partial thromboplastin time, D-dimers, fibrinogen, prothrombin time and thrombin time, in citrate-anticoagulated whole blood specimens. *International journal of laboratory hematology*, 2013, vol. 35, no 5, p. 566-570.
22. TANNER, Melissa, KENT, Neil, SMITH, Brian, et al. Stability of common biochemical analytes in serum gel tubes subjected to various storage temperatures and times pre-centrifugation. *Annals of Clinical Biochemistry*, 2008, vol. 45, no 4, p. 375-379.
23. Insert Tubes BD Vacutainer® VDP40161-WEB-01 -09/2012.

Caroline MAIER-LECLERC
Responsable des Affaires Cliniques
BD Life Sciences - Preanalytical Systems

Signature :



Isabelle COUACH
Chef de Produit Senior
BD Life Sciences - Preanalytical Systems

Signature :

