



Centrifugation

À la fin de la lecture de ce document, vous devez :

- Savoir déterminer la durée et la vitesse de centrifugation pour chaque spécimen
- Connaître le fonctionnement de la centrifugeuse
- Connaître les erreurs pré-analytiques

1. La centrifugation en analyse médicale

La centrifugation est une technique qui utilise la force centrifuge pour séparer les différents composants d'un fluide. Au laboratoire médical, elle est principalement utilisée pour séparer le plasma ou le sérum à partir de prélèvements sanguins ou pour obtenir un sédiment urinaire. Le sang est collecté dans des tubes résistants à la centrifugation qui sont ensuite placés dans une centrifugeuse. Pendant la centrifugation, les composants du sang ou des urines les plus lourds sont entraînés au fond du tube, accélérant une sédimentation naturelle. Ils sont ainsi séparés du surnageant, du plasma s'il s'agit de sang anticoagulé ou du sérum si le sang a coagulé naturellement.

2. Temps et vitesse de centrifugation

Une centrifugation optimale doit être assez intense pour permettre une sédimentation totale des cellules (absence de cellules en suspension dans le surnageant) tout en étant suffisamment douce pour ne pas lyser les cellules sanguines (libération de leur contenu dans le liquide surnageant), ou les éventuelles cellules présentes dans les urines.

D'une manière générale, les indications sont les suivantes.

- Sérum : après coagulation complète (au minimum 30 minutes à température ambiante, le temps peut être prolongé si le patient est sous anticoagulant), centrifuger le tube entre 1300 et 2500 g pendant 10 à 15 minutes. Certains tubes avec gel séparateur contiennent un activateur de coagulation et pourront être centrifugé moins longtemps entre, 2000 – 4000 g.
- Plasma : centrifuger le tube entre 1300 et 3000 g pendant 5 à 15 minutes, ceci peut être fait immédiatement après le prélèvement.
- Sédiment urinaire : centrifuger l'échantillon à 400 g pendant 5 minutes. Ne pas dépasser ces recommandations car les culots ont tendance à être trop compacts et les leucocytes à former des amas.

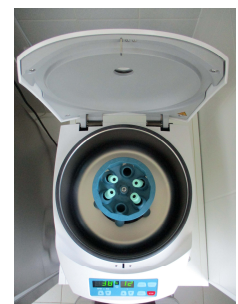
La durée et la vitesse de centrifugation requises dépendent du type d'échantillon, du type de tube choisi (se référer aux indications du fabricant de tubes), ainsi que de la centrifugeuse utilisée (rayon du rotor).

3. Chargement de la centrifugeuse

Les tubes doivent impérativement être disposés dans le rotor de façon à éviter tout déséquilibre. Ainsi le poids (en grammes) des tubes qui se font face dans le rotor doit être similaire.

Si le nombre de tubes à centrifuger est impair, on placera en face du tube unique un autre tube contenant le volume d'eau nécessaire pour obtenir un poids identique.

Un déséquilibre dans le chargement du rotor (tube plus lourd d'un côté que de l'autre) peut avoir des conséquences dramatiques : rupture de l'axe et expulsion du rotor car soumis à des vitesses énormes, d'où le risque de dommages dans le laboratoire et de blessures du personnel.



4. Calcul de la vitesse de rotation pour une centrifugeuse précise

- Le nombre g indique la force requise pour obtenir une centrifugation optimale. Il est également dénommé force centrifuge relative (RFC) et permet de calculer la vitesse de rotation nécessaire pour un tube et une centrifugeuse donnés.
- La relation entre la vitesse du rotor exprimée en tours ou en rotations par minute (rpm), la force centrifuge relative (RFC) ou g et la distance entre le centre du rotor et le fond du tube (r = rayon de rotation en mm) est décrite par la formule :

$$\text{rpm} = 1000 \times \sqrt{\frac{\text{RFC}}{r \times 1,118}}$$

- Pour déterminer la vitesse de rotation :
 1. identifier la RFC nécessaire : se référer aux indications fournies par le fabricant du tube.
 2. identifier le rayon (= la moitié du diamètre) du rotor de la centrifugeuse : consulter le mode d'emploi de la centrifugeuse ou lire directement sur le rotor.
 3. appliquer la formule de calcul.

Exemple : le rayon de rotation d'un rotor (r) est de 86 mm. A quelle vitesse faudra-t-il programmer la centrifugeuse pour obtenir une accélération (RCF) de 1300 g ?

$$\rightarrow \text{rpm} = 1000 \times \sqrt{\frac{1300}{86 \times 1,118}} = 3677 \approx 3700$$

- Plusieurs fabricants de tubes ou de centrifugeuse proposent un calculateur en ligne sur leur site Internet.
- La vitesse de rotation peut également être déterminée en ayant recours à un nomogramme :

1. identifier la force centrifuge et le rayon de la centrifugeuse comme ci-dessus.
1. sur l'échelle représentant la force centrifuge, marquer la valeur de la force centrifuge requise ①.
3. sur l'échelle représentant le rayon, marquer la valeur du rayon de la centrifugeuse ②.
4. relier les deux marques en prolongeant le trait pour couper l'échelle représentant les rotations par minute.
5. lire la valeur indiquée par le point d'intersection sur l'échelle des rotations par minute pour obtenir la vitesse de rotation à régler sur la centrifugeuse ③.

Avec l'exemple ci-dessus : rpm (③) \approx 3700

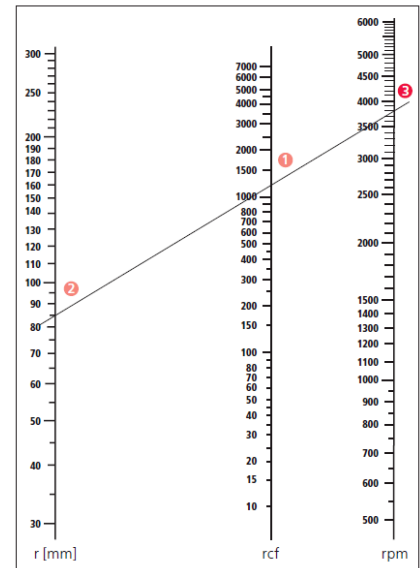


Figure 1: Nomogramme

5. Entretien et maintenance de la centrifugeuse

Le rotor et les accessoires doivent être nettoyés et désinfectés régulièrement. La qualité des analyses peut être affectée par un appareil sale (risque de contamination croisée).

Un programme de maintenance doit être prévu pour vérifier que la vitesse de centrifugation est bien celle attendue (voir les recommandations de maintenance du fournisseur).

6. Erreurs pré-analytiques liées à la centrifugation

Une centrifugation incorrecte peut provoquer par exemple une augmentation du taux de potassium, de phosphate inorganique ou de lactate déshydrogénase (LDH).

6.1 Température

La centrifugation est en général réalisée à température ambiante, mais pour certains analytes labiles il faut régler la température de centrifugation à la température adéquate (tenir aussi compte que la température augmente durant la centrifugation).

6.2 Temps de centrifugation

Le temps de centrifugation doit correspondre à l'échantillon. Pour les spécimens anticoagulés, le fabricant du tube indique le temps optimal de façon à ce qu'il ne reste plus de plaquettes dans le plasma.

6.3 Tubes avec gel séparateur

Les tubes avec gel ne doivent jamais être re-centrifugés car la re-centrifugation de tels tubes peut avoir des conséquences sur les résultats, des particules de gel peuvent se détacher et se mélanger au sérum. Conseil : si l'échantillon devait être re-centrifugé, transférer le sérum ou le plasma du tube primaire dans un autre tube propre et sec, puis le re-centrifuger.

6.4 Re-centrifugation des échantillons conservés

Une pseudo augmentation du potassium peut être observée sur des sérums re-centrifugés, après 12 heures de conservation.

Mise à jour
Création

Janvier 2017
Juillet 2009

Laurence Vernez et Dagmar Kessler
Tarik Sabbari Hassani, Dagmar Kessler et André Deom

© CSCQ AUCUNE COPIE DE CE DOCUMENT N'EST AUTORISÉE SANS L'ACCORD DU CSCQ.

CSCQ, 2 CHEMIN DU PETIT-BEL-AIR, CH - 1225 CHÊNE-BOURG