



NOTE

RECOMMANDATIONS CONCERNANT LA SURVEILLANCE DES CENTRIFUGEUSES

01/08/2014

Les exigences en matière de traçabilité des résultats de mesure sont développées au chapitre 5.3.1.4 du document SH REF 02 – révision 04.

Pour chaque grandeur (temps, vitesse et température), **le laboratoire évalue son influence sur l'échantillon ou le processus analytique**. Il justifie sa démarche en fonction de l'utilisation de la centrifugeuse (séparation du sérum, obtention d'un culot, technique de gel-filtration en immuno-hématologie...) et en se référant aux différentes sources vérifiables et démontrées auxquelles il a accès : fiches techniques des fournisseurs, recommandations des sociétés savantes, publications scientifiques...

Dans le cas où un laboratoire ne suit pas l'un des documents de référence, il lui appartient **de démontrer que la démarche retenue est satisfaisante** (par exemple à l'aide d'un dossier de validation, cf. ch. 5.5.1.3 de la norme NF EN ISO 15189), en prouvant, le cas échéant, qu'une ou plusieurs grandeur(s) n'a/ont pas d'influence sur la qualité des résultats.

La démarche que les laboratoires peuvent adopter concernant les centrifugeuses est illustrée dans les exemples ci après.

Dans ces exemples, il convient de bien différencier :

- **La confirmation métrologique**, qui représente un ensemble d'opérations nécessaires pour assurer qu'un équipement de mesure répond aux exigences correspondant à l'utilisation prévue. La confirmation métrologique comprend généralement **l'étalonnage** et **la vérification**. La confirmation métrologique n'est considérée achevée qu'à partir du moment où l'aptitude de l'équipement de mesure pour l'utilisation prévue est démontrée et documentée.
- **Le contrôle**, qui représente une évaluation de la conformité par observation et jugement, accompagnés généralement par une mesure de la valeur de la caractéristique considérée : on parle alors de contrôle par mesures.

Exemple : Cas des centrifugeuses d'un site pré et post-analytique pour la grandeur température

Quels sont les examens concernés ?

Biochimie, Hémostase courante et spécialisée (cofacteur V, VIII, ...), examens spécialisés transmis, ...

Quels sont les besoins du laboratoire ?

Exemple de recommandations pour la grandeur température : fournisseur de tubes : 15-25°C pour les tubes héparinés, 20-25°C pour les tubes avec gel, sociétés savantes : d'après GEHT 18-22°C pour les paramètres d'hémostase, d'après CLSI 18-24°C, ...

Quelle est l'influence de la grandeur sur l'échantillon ou le processus analytique ?

Le non-respect de ces recommandations peut entraîner **une altération de l'échantillon par augmentation de la température**, ayant une influence sur la qualité des résultats. En conséquence, la centrifugeuse doit être considérée comme un équipement critique. L'utilisation d'une centrifugeuse réfrigérée est recommandée.

Le raccordement au SI est-il pertinent ?

Par exemple, le laboratoire se base sur les recommandations du GEHT 18-22°C, c'est-à-dire 20+/-2°C (2°C correspond à l'EMT : Ecart Maximal Toléré). La pertinence repose sur le fait que **l'EMT est très restrictif** et que la justesse de la mesure doit être assurée.

L'étalonnage pour assurer le raccordement au SI est-il possible ?

Il n'existe pas à ce jour de procédure normalisée. L'exigence d'un étalonnage couvert par l'accréditation ne peut pas être opposable. En absence de raccordement strict au SI, le laboratoire effectue un **contrôle**.

Quelles sont les opérations de contrôle réalisables ?

L'opération de contrôle est réalisée soit directement par le laboratoire, soit par un prestataire (fournisseur de centrifugeuse, prestataire de métrologie, ...) selon une procédure adaptée aux besoins du laboratoire et au matériel utilisé, à l'aide d'un matériel de référence raccordé (au SI). Dans ce dernier cas, le prestataire est considéré comme un fournisseur critique, il est en conséquence sélectionné et évalué (cf. chapitre 4.6 de la norme NF EN ISO 15189).

Comment conclure sur la conformité de l'équipement ?

Le laboratoire vérifie que le contrôle correspond à ses besoins (dans cet exemple recommandations du GEHT 18-22°C). Le laboratoire définit la fréquence des contrôles selon une analyse de risque documentée (robustesse de l'équipement, fréquence d'utilisation, rapport de contrôle de sécurité annuel, vétusté, ...). **Une fréquence annuelle** du contrôle de la température est recommandée.

Exemple : Cas des centrifugeuses d'un site pré et post-analytique pour la grandeur temps

Quels sont les examens concernés ?

Biochimie, Hémostase courante et spécialisée (cofacteur V, VIII, ...), examens spécialisés transmis, ...

Quels sont les besoins du laboratoire ?

Exemple de recommandations reconnues pour la grandeur temps : fournisseur de tubes : 10min pour les tubes citrate, sociétés savantes : d'après GEHT : 15min pour les paramètres d'hémostase, d'après CLSI : au moins 15min, ... Dans ce dernier cas, seule **l'exigence du minimum de temps est requise**. En effet, le risque réside dans la persistance de plaquettes (hémostase) ou de fibrine (biochimie) si la durée minimale n'est pas respectée.

Quelle est l'influence de la grandeur sur l'échantillon ou le processus analytique ?

Le non-respect de ces recommandations peut entraîner une altération de la séparation des éléments figurés du sang, du plasma ou du sérum.

Le raccordement au SI est-il pertinent ?

Le raccordement permet de s'assurer de la justesse du temps de centrifugation programmé. La pertinence du raccordement peut se justifier par le fait que la mesure de la durée de centrifugation doit respecter des exigences précises.

Néanmoins, lorsque le laboratoire doit respecter une exigence « minimale » (par exemple « au moins 15 min ») et si la précision de la durée de centrifugation est très inférieure à l'EMT (+/-1 min) défini par le laboratoire, le raccordement de la grandeur temps n'est pas nécessaire. Le choix de ne pas raccorder cette grandeur ne dispense toutefois pas le laboratoire d'effectuer un contrôle.

Quels sont les types d'étalonnage possibles pour assurer le raccordement au SI ?

L'étalonnage du temps peut être réalisé auprès d'un prestataire externe accrédité ou en interne par le laboratoire. Dans le cas où l'étalonnage est réalisé par le laboratoire, il se fait classiquement auprès de l'horloge parlante ou sur le site Internet du BIPM (www.bipm.org). Dans le cas où la prestation est réalisée auprès d'un prestataire, ce dernier est considéré comme un fournisseur critique, il est en conséquence sélectionné et évalué (cf. chapitre 4.6 de la norme NF EN ISO 15189). Le raccordement se fera sur une durée au moins égale à la durée de centrifugation.

Quelles sont les opérations de contrôle réalisables ?

L'opération de contrôle est réalisée soit directement par le laboratoire, soit par un prestataire (fournisseur de centrifugeuse, prestataire de métrologie, ...) selon une procédure adaptée aux besoins du laboratoire et au matériel utilisé, à l'aide d'un matériel de référence raccordé (au SI). Dans ce dernier cas, le prestataire est considéré comme un fournisseur critique, il est en conséquence sélectionné et évalué (cf. chapitre 4.6 de la norme NF EN ISO 15189).

Comment conclure sur la conformité de l'équipement ?

Dans le cas où l'étalonnage a été réalisé, le laboratoire vérifie systématiquement l'adéquation de son équipement à ses exigences métrologiques spécifiées (notamment EMT au regard de l'incertitude) en confrontant le rapport d'étalonnage à ses besoins. L'opération d'étalonnage et de vérification constitue la "confirmation métrologique".

Dans le cas d'une opération de contrôle, où le laboratoire doit par exemple respecter une exigence « minimale » (au moins 15 min) et si la précision de la durée de centrifugation est très inférieure à l'EMT (+/-1 min) défini par le laboratoire, le laboratoire vérifie que **la durée affichée correspond à ses besoins** (exemple 15 min +/- 5 s).

Dans tous les cas, en présence d'une erreur de justesse significative, le laboratoire corrigera sa consigne et la confirmera par un nouveau contrôle/étalonnage.

Enfin, le laboratoire définit la fréquence des opérations de contrôles/étalonnages selon une analyse de risque documentée (robustesse de l'équipement, fréquence d'utilisation, rapport de contrôle de sécurité annuel, vétusté, ...). Une **fréquence annuelle est recommandée**.

Exemple : Cas des centrifugeuses d'un site pré et post-analytique pour la grandeur vitesse de rotation

Préambule :

Les conditions de vitesse de centrifugation doivent être exprimées en « g » afin de standardiser les protocoles indépendamment du matériel utilisé (rayon du rotor). La conversion des « g » (RCF) en « tours/min » (RPM) peut se faire à l'aide des formules suivantes :

$$RPM = \sqrt{\frac{rcf(g) \times 10^5}{1,12 \times r}}$$

$$RCF = 1,12 \times 10^{-5} * r * n^2$$

Où

$g = 9,81 \text{ m} \cdot \text{s}^{-2}$ ($m = \text{mètre}$, $s = \text{seconde}$).

RPM : rotation par minute.

RCF : force centrifuge relative (Relative Centrifugal Force)

$r = \text{distance en cm entre l'axe du rotor et le point considéré (rayon de rotation)}$

$n = \text{vitesse de rotation en tours par minute (RPM)}$

Quels sont les examens concernés ?

Biochimie, Hémostase courante et spécialisée (cofacteur V, VIII, ...), examens spécialisés transmis, ...

Quels sont les besoins du laboratoire ?

Exemple de recommandations pour la grandeur vitesse : fournisseur de consommables : 1300-2000g pour les tubes héparinés et les tubes gels, sociétés savantes : d'après GEHT : 2000-2500g pour les paramètres d'hémostase, d'après CLSI : 1500g, ...

Quelle est l'influence de la grandeur sur l'échantillon ou le processus analytique ?

Le non-respect de ces recommandations peut entraîner une altération de la séparation des éléments figurés du sang, du plasma ou du sérum.

Le raccordement au SI est-il pertinent ?

La pertinence du raccordement peut se justifier par le fait que la mesure de la vitesse de centrifugation doit respecter des exigences précises.

Néanmoins, dans l'exemple où un laboratoire suit les recommandations du GEHT 2000-2500g, c'est-à-dire 2250 ± 250 g (250g correspond à l'EMT : Écart Maximal Toléré), le raccordement de la vitesse n'est pas nécessaire dans la mesure où la précision de la vitesse de rotation de la centrifugeuse est très inférieure à l'EMT. Le choix de ne pas raccorder cette grandeur ne dispense toutefois pas le laboratoire d'effectuer un contrôle.

Quels sont les types d'étalonnage possibles pour assurer le raccordement au SI ?

L'étalonnage de la vitesse (tours par minute) peut être réalisé en interne par le laboratoire à l'aide d'un tachymètre raccordé au SI (par un prestataire accrédité) ou auprès d'un prestataire externe accrédité. Dans ce dernier cas le prestataire est considéré comme un fournisseur critique, il est en conséquence sélectionné et évalué (cf. chapitre 4.6 de la norme NF EN ISO 15189).

Quelles sont les opérations de contrôle réalisables ?

L'opération de contrôle est réalisée soit directement par le laboratoire, soit par un prestataire (fournisseur de centrifugeuse, prestataire de métrologie, ...) selon une procédure adaptée aux besoins du laboratoire et au matériel utilisé, à l'aide d'un matériel de référence raccordé (au SI). Dans ce dernier cas, le prestataire est considéré comme un fournisseur critique, il est en conséquence sélectionné et évalué (cf. chapitre 4.6 de la norme NF EN ISO 15189).

Comment conclure sur la conformité de l'équipement ?

Dans le cas où l'étalonnage a été réalisé, le laboratoire vérifie systématiquement l'adéquation de son équipement à ses exigences métrologiques spécifiées (notamment EMT au regard de l'incertitude) en confrontant le rapport d'étalonnage à ses besoins. L'opération d'étalonnage et de vérification constitue la "confirmation métrologique".

Dans le cas de l'exemple (GEHT 2000 à 2500g), suite à l'opération de contrôle, le laboratoire vérifie que **la vitesse de rotation (en g) affichée correspond à ses besoins**.

Dans tous les cas, en présence d'une erreur de justesse significative, le laboratoire corrigera sa consigne et la confirmera par un nouveau contrôle/étalonnage.

Enfin, le laboratoire définit la fréquence des opérations de contrôles/étalonnages selon une analyse de risque documentée (robustesse de l'équipement, fréquence d'utilisation, rapport de contrôle de sécurité annuel, vétusté, ...). Une **fréquence annuelle est recommandée**.

CONCLUSION A PARTIR DES EXEMPLES

En l'absence d'exigence spécifique :

A ce jour, en l'état actuel des connaissances et des possibilités techniques, et ce pour des examens de « routine » :

- **le temps n'est pas considéré comme une grandeur critique**, dans la mesure où il doit respecter une exigence minimale et que la précision de la durée de centrifugation est très inférieure à l'EMT défini par le laboratoire. Le raccordement au SI n'est pas indispensable.
- **la vitesse angulaire n'est pas considérée comme une grandeur critique**, dans la mesure où la précision de la vitesse de rotation de la centrifugeuse est très inférieure à l'EMT défini par le laboratoire. Le raccordement au SI n'est pas indispensable.
- **la température est considérée comme critique**. Toutefois, en l'absence de méthode reconnue, le raccordement au SI n'est pas possible.

En conséquence, il est recommandé d'utiliser une centrifugeuse réfrigérée (afin de mieux maîtriser les élévations de températures lors des cycles de centrifugation) et d'effectuer un suivi pour les grandeurs vitesse, temps et température à l'aide d'un matériel de référence raccordé (au SI). Ces contrôles peuvent être réalisés en interne ou auprès d'un fournisseur, avec une fréquence annuelle et sur les différents programmes utilisés. Ce suivi peut être réalisé en même temps que le contrôle de sécurité réglementaire (Arrêté du 5 mars 1993, ...).

En présence d'exigence spécifique :

Pour certains examens (techniques d'agglutination et de filtration sur gel en immunohématologie, centrifugation sur gradient, isolement de parasites, ...), le laboratoire adoptera la démarche globale développée dans les exemples pour définir la pertinence du raccordement au SI de la ou des grandeur(s) ayant une influence sur la qualité de l'examen.