

Prélèvement et conservation des échantillons

Dr M. Badredine

3^{ème} année médecine

Année universitaire: 2022/2023

Introduction

Les examens biologiques sont des outils demandés par le médecin traitant pour:

- Confirmer ou infirmer une impression diagnostique.
- Démarche préventive.
- Suivi thérapeutique.
- Pronostic.

Ils sont demandés:

- en urgence
- en routine

Introduction

L'analyse biologique peut être divisé en trois phases :

- **une phase pré-analytique**
- **une phase analytique**
- **une phase post-analytique**

Introduction

- La phase pré analytique : c'est la première phase de l'analyse biologique, elle est très importante.
- Elle commence dès la prescription des paramètres biologiques (prescripteur) et s'arrête au début de l'analyse (phase analytique).
- Elle comprend:
 - 1- prélèvement
 - 2- Identification
 - 3- conservation
 - 4- transport
 - 5- réception et Enregistrement
 - 6- Centrifugation

1. Prélèvement

Le premier stade de toute analyse (et l'un des plus importants) est le prélèvement de l'échantillon à analyser.

- **Prélèvement** : acte permettant l'obtention d'un échantillon biologique.
- **Échantillon biologique** : échantillon obtenu par recueil ou acte de prélèvement et sur lequel vont être effectuées des analyses de biologie médicale (Sang , Urines , Liquides des ponctions)

1.Prélèvement

1.1 Le sang

1.1.1 . Modes de prélèvement :

- le sang veineux
- le sang capillaire
- le sang artériel

Sang veineux

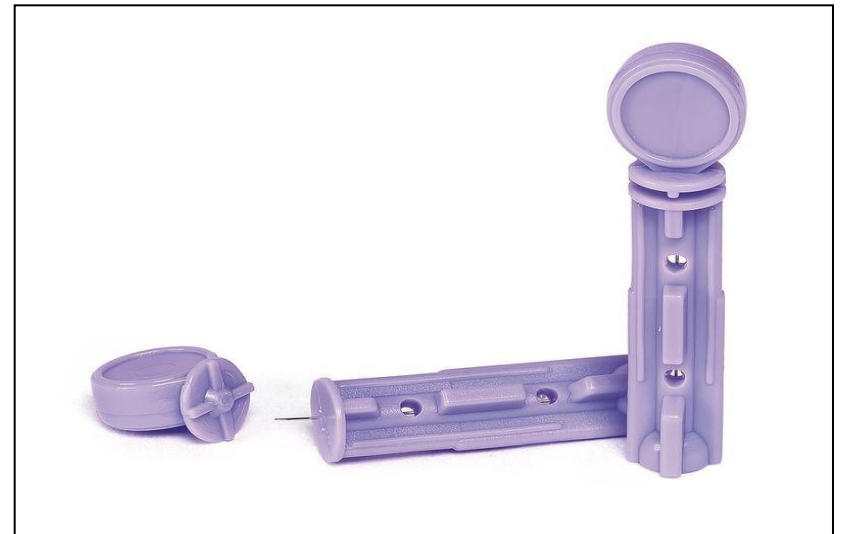
- le plus souvent prélevé dans les veines superficielles du pli du coude, avec une aiguille bien coupante en acier inoxydable.
- Pour faciliter le prélèvement, on peut placer un garrot, de telle manière que la circulation artérielle ne soit pas arrêtée, mais il est nécessaire de retirer le garrot dès que l'aiguille est en place pour éviter la stase.
- Le sang contenu dans la seringue sera rapidement réparti dans les tubes spéciaux pour être transporté au laboratoire.

Sang veineux



Le sang capillaire

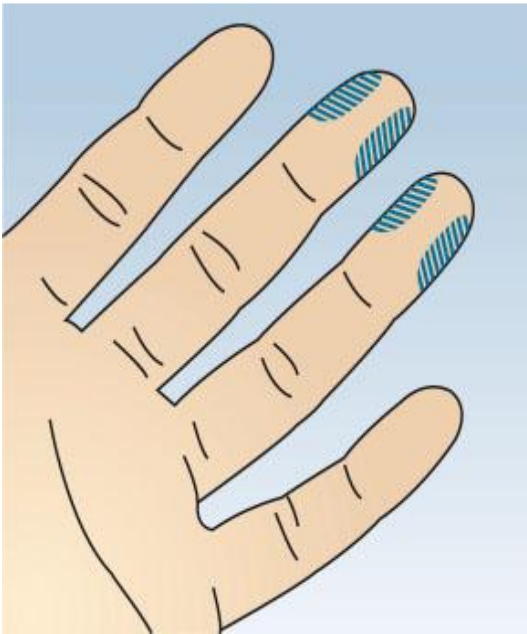
- En particulier chez les enfants, chez le nouveau né et même les prématurés.
- On utilise :
 - Des lancettes
 - vaccinostyles à usage unique.



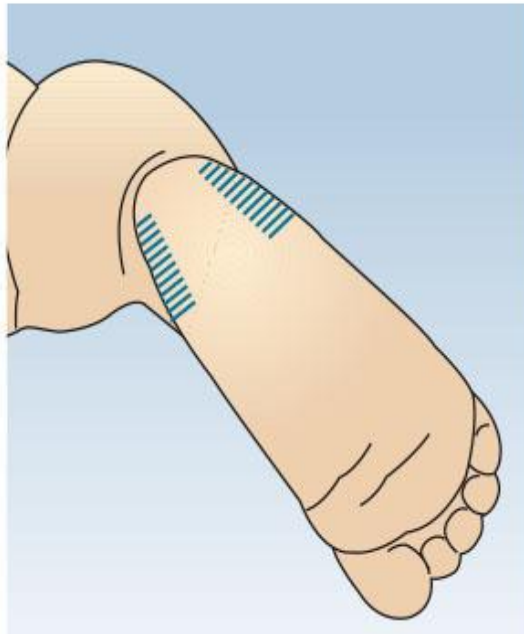
Le sang capillaire

Le prélèvement se fait à la *pulpe du doigt*, au *lobe de l'oreille* ou au *talon* pour les enfants

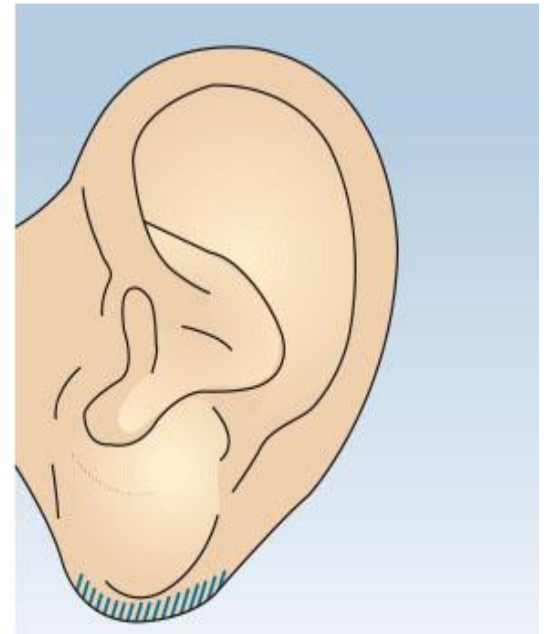
❶ Pulpe du doigt



❷ Talon



❸ Lobe d'oreille



Le sang artériel

- réservé a des déterminations exceptionnelles :
 1. gaz du sang
 2. étude de l'équilibre acido-basique
 3. ammoniacque
- Le prélèvement est délicat et doit être réalisé par un médecin
- Il se fait à l'artère *humérale ou fémorale*
- L'aiguille doit être plantée directement dans le vaisseau que l'on repère au toucher par le battement artériel

1.prélèvement

1.1 le sang

1.1.2 Conditions de prélèvement

- On opère, en général, le matin à jeun (12heures), afin d'obtenir toujours les mêmes résultats et d'éviter les variations nycthémérales.
- Les variations nycthémérales sont importantes à considérer pour certains dosages (cortisol, prolactine..)
- L'influence postprandiale d'un repas normale pris la veille au soir est pratiquement nulle après 12 heures environ .
- De nombreux paramètres biochimiques ne soient pas affectés par la proximité d'un repas (Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- -.....)

1.prélèvement

1.1 le sang

1.1.2 Conditions de prélèvement

- Le sujet doit se trouver dans un état de repos allongé et détendu.
- il faut éviter toute émotion, rassurer le patient et le placer dans un endroit confortable (variation du glucose, phosphate, des acides gras non estérifiés du plasma , sous l'influence de l'adrénaline)
- L'orthostatisme ou la position horizontale peut modifier certains dosages (rénine, aldostérone).
- La salle de prélèvement doit être équipée conformément aux exigences du GBEA (guide de bonne exécution des analyses) et respecter la confidentialité.

1. Le prélèvement

1.1 le sang

1.1.3 Matériel de prélèvement

- Le matériel doit être propre et adapté aux analytes à doser.
- Des aiguilles, seringues et récipients de tailles et nature différentes selon l'état physiopathologique du patient.
- Les aiguilles et seringues ne doivent pas être nettoyées à l'alcool ou à l'éther (hémolyse).
- La nature des additifs et des conservateurs mais aussi le volume à prélever dépendent des analytes et sont décrites dans les procédures du laboratoire.
- Les tubes pour recevoir le sang sont en verre ou en plastique (polyéthylène), de tailles très variables (1 à 20 ml), toujours munis d'un bouchon adapté .

1. Le prélèvement

1.1 le sang

Les récipients

ordre de prélèvement →

Color	Cap	Content	Additive
Rouge	X	Sérum	
Bleu	●	Plasma	Citrate de sodium 1:9
Doré	●	Sérum	Particules silice + gel séparateur
Rouge	●	Sérum	Particules silice
Vert pâle	●	Plasma	Héparine de lithium
Vert foncé	●	Plasma	Héparine de sodium
Lavande	●	Sang total	EDTA
Rose	●	SG, Plasma	EDTA
Gris	●	Plasma	Oxalate de potassium + fluorure de sodium
Noir	●	Sang total	Citrate de sodium 1:4

X = SANS ADDITIF
● = ACT. DE COAGULATION
● = ANTICOAGULANT

1. Le prélèvement

1.1 le sang

Les anticoagulants

- Très souvent, il est nécessaire de rendre le sang incoagulable par addition d'un anticoagulant pour obtenir après centrifugation le plasma.
- trois sortes d'anticoagulant :
 1. les anticoagulants complexant le calcium
 2. les inhibiteurs de l'enzymes de la coagulation
 3. les anticoagulants inhibant les enzymes de la glycolyse

1. Les anticoagulants complexant le calcium

- ✓ Ils inhibent certaines enzymes (nécessitant du calcium ou du magnésium comme coenzymes).
- ✓ Par contre, ils ne conviennent pas pour le dosage du calcium qu'ils complexent.

i. Le citrate

Surtout utilisé pour la détermination du fibrinogène ou pour la vitesse de sédimentation.

ii. EDTA (éthylène diamine tétracétique) et dérivés

Préserve la forme et l'aspect des éléments figurés du sang (FNS, hématocrite)

iii. Les oxalates:

Ils sont utilisés pour le dosage des facteurs de la coagulation, du fibrinogène et de certains métabolites.

2. Les inhibiteurs des enzymes de coagulation

i. Les héparinates

- ✓ Ces héparinates de lithium n'interfèrent pas dans la détermination des électrolytes (sauf le lithium du plasma)

ii. Dextranes sulfonées ou héparines synthétiques

- ✓ Sont peu utilisés.

3. Les anticoagulants inhibant les enzymes de la glycolyse

i. **Fluorure de sodium**

- ✓ il bloque les enzymes de la glycolyse ,Il est utilisé pour déterminer les métabolites du glucose

ii. **Monoiodacétate de sodium**

- ✓ C'est un bon anti-glycolytique mais un mauvais anticoagulant

1. Le prélèvement

1.1 le sang

1.1.4 Le préleveur

Le préleveur peut être un infirmier, un biologiste ou un technicien possédant un certificat obligatoire de prélèvement voire même un médecin (LCR..).

1. Le prélèvement

1.1 le sang

1.1.5 Interférences

1- L'hémolyse : décelable à l'œil nu dès que la concentration atteinte 0.2g/l d'hémoglobine.

l'hémolyse libère des substances intra érythrocytaires dont la concentration est supérieure à la concentration plasmatique (K⁺)

2- La bilirubine : au delà de 240 $\mu\text{mol/l}$ gêne les lectures spectrophotométriques s'effectuant entre 400 et 500 nm.

3- les triglycérides en quantité anormale, qui se traduit par une lactescence du sérum, pose également un certain nombre de problèmes.

1. Le prélèvement

1.1 le sang

1.1.5 Interférences



1. Le prélèvement

1.2 les urines

Urines de 24h

- Il est utile de collecter dans la pratique courante les « urines de 24 heures », elles posent un problème de stockage et de conservation, compte tenu des volumes recueillis.
- Les urines de 24 heures doivent être prélevées dans des conditions bien définies :
 - Faire uriner le sujet à 8h le matin et jeter ces urines, puis recueillir toute les urines jusqu'au lendemain 8h, dans un récipient propre et conserver dans un endroit frais.
- Après homogénéisation, on mesure avec précision le volume émis.

Échantillon unique

- En général, il faut recueillir les urines le matin.

1. Le prélèvement

1.3 Les liquides de ponction

- Parmi les liquides dont l'analyse est le plus souvent réalisée au laboratoire :
 1. liquide céphalo-rachidien
 2. le liquide d'ascite
 3. le liquide pleural
 4. le liquide synovial
 5. le liquide péricardique
 6. le liquide gastrique
 7. la bile
 8. le liquide duodénale
 9. la salive

2. Identifications des échantillons

- L'étiquetage des récipients contenant l'échantillon biologique doit être fait au moment du prélèvement par la personne ayant réalisé celui-ci.
- L'étiquetage doit être conçu pour éviter toute erreur sur l'identité de la personne.
- Il doit mentionner, outre l'identité et la date de naissance, déclinées par le patient lui-même dans la mesure du possible, le nom de jeune fille si une procédure le prévoit, le sexe, la nature de l'échantillon, le nom du préleveur, la date et, chaque fois qu'une procédure le prévoit, l'heure du Prélèvement et/ou sa localisation.

3. Conservation des échantillons

3.1 Le sang

- ✗ Il faut éviter toute hémolyse qui empêche la réalisation de nombreux dosages sur le sérum ou sur le plasma.
- ✗ Certaines substances sont relativement instables : la bilirubine, par exemple se conserve dans un sérum exempt de globules rouges à $+4^{\circ}\text{C}$ à l'abri de la lumière.
- ✗ Le plasma et le sérum se conserve en tubes bouchés à $+4^{\circ}\text{C}$ pendant 24h ; au delà il est préférable de congeler l'échantillon à -20°C ou la plupart de leurs constituants se conservent indéfiniment.

3. Conservation des échantillons

2- Les urines

On peut ajouter divers produits conservateurs :

- 10 % de volume en formol
- des cristaux de Thymol
- l'HCl 10 mol/l, employé pour la détermination des stéroïdes et des catécholamines.
- le toluène en formant une couche isolante à la surface des urines évite les pollutions bactériennes
- enfin le merseptyl, antiseptique mercuriel non toxique.

4 - Transport et transmission des échantillons :

- Le transport des échantillons doit respecter des règles qui assurent l'intégrité de l'échantillon et la sécurité du personnel.
- Des procédures et des modes opératoires écrits par le laboratoire qui effectue l'analyse doivent fixer les conditions particulières de délai de transport, de température de conservation et d'intégrité de l'emballage des échantillons biologiques.
- Le transport des échantillons biologiques doit s'effectuer le plus rapidement possible au laboratoire

5 –Réception et enregistrement des échantillons

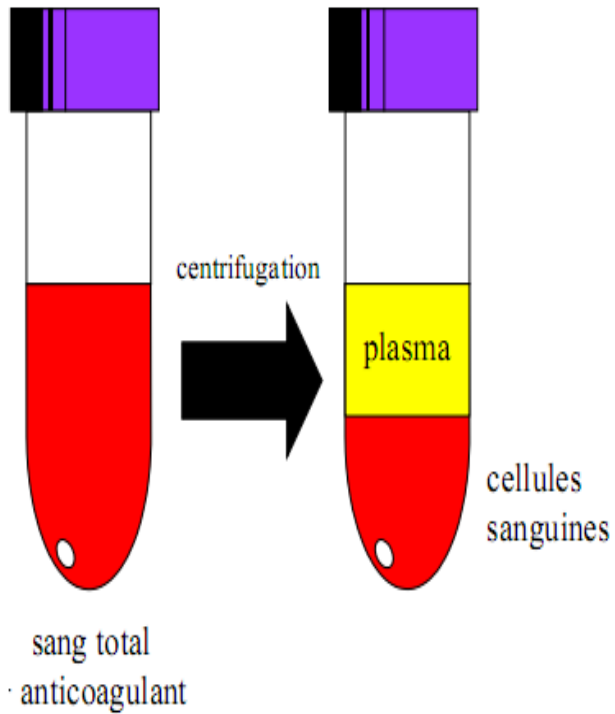
- Lors de la réception, la conformité de l'échantillon aux spécifications du laboratoire est vérifiée.
- Cela inclus l'identification du patient sur l'échantillon et sur la prescription, la conformité du récipient aux analyses prescrites (nature de l'anticoagulant, volume de l'échantillon), l'intégrité du récipient ainsi que le respect des conditions de transport préconisées (durée maximale, température).
- Les éléments d'enregistrement incluent : nom, prénom, date de naissance, sexe, médecin prescripteur, analyses à effectuer.

6-Centrifugation

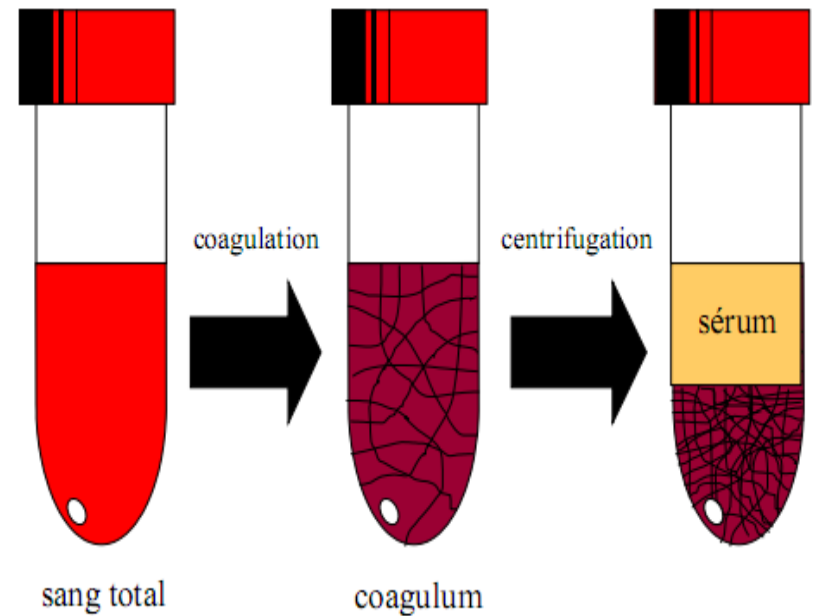
- Il s'agit d'une séparation différentielle des constituants de l'échantillon biologique en fonction de leurs densités.
- Elle a pour but de se débarrasser des éléments figurés de l'échantillon biologique.

6-Centrifugation

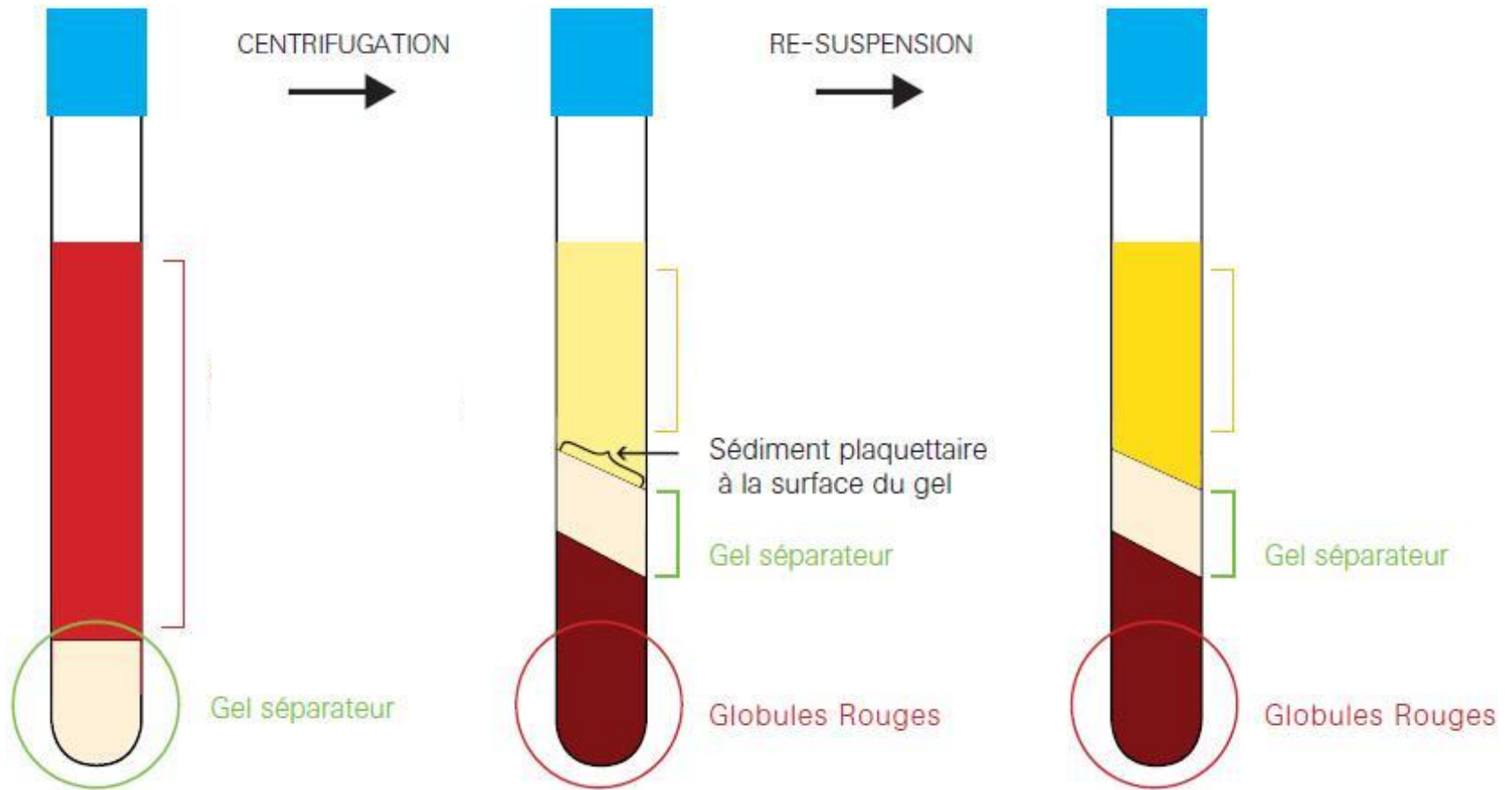
Préparation du plasma



Préparation du sérum



6-Centrifugation



**«Un mauvais échantillon, même
passé sur un bon analyseur, donnera
de mauvais résultats»**