

## **Les étapes de l'analyse biochimique**

Cours destiné aux étudiants de 3ème année médecine  
Année universitaire 2021-2022

### **Objectifs du cours**

- Définir les différentes étapes de l'analyse en biochimie.
- Définir avec précision les différents types de prélèvements biologiques en biochimie
- Définir les différentes techniques de prélèvements, d'anticoagulants et les recommandations qui leur sont associées.
- Identifier les sources d'erreurs de l'analyse biochimique.
- Identifier les pièges à éviter dans l'interprétation d'un résultat biochimique.

### **Plan du cours**

- I. Introduction**
- II. Les étapes de l'analyse biochimique**
  - A. La phase pré-analytique**
    - 1. La prescription**
    - 2. Prélèvement**
    - 3. Le transport**
    - 4. La réception des échantillons**
    - 5. La centrifugation**
    - 6. Conservation**
    - 7. Sources d'erreurs à la phase pré-analytique**
  - B. Phase analytique**
    - **Source d'erreurs de la phase analytique**
  - C. Phase post-analytiques**
    - **Les variables influençant la phase post-analytique**
- III. Conclusion**

## I. Introduction

Le dosage d'un paramètre biochimique ne se limite pas seulement à rendre une valeur numérique, mais consiste en une série d'étapes bien codifiées et minutieusement contrôlées allant du prélèvement au rendu du résultat. Ce dernier doit être précis, pertinent et intégré de façon appropriée à la décision clinique

## II. Les étapes de l'analyse biochimique

L'analyse d'un paramètre biochimique passe par 3 phases :

- La phase pré-analytique : phase allant de la prescription à l'analyse.
  - La phase analytique : phase de la réalisation manuelle ou sur un automate de l'analyse.
  - La phase post-analytique : phase de validation, d'interprétation et de rendu du résultat.
- A. **La phase pré-analytique** : correspond au processus qui s'écoule entre la prescription et l'analyse, Elle comporte la préparation du patient et du matériel, l'acte de recueil d'un échantillon représentatif, sa conservation et son transport.
- Elle se décompose en deux étapes:
- **La première** ; souvent externe au laboratoire. Elle est prise en charge par le prescripteur et le préleveur et inclue la prescription, le prélèvement et le transport de l'échantillon.
  - **La deuxième**, interne au laboratoire, devrait débuter par la réception et la validation de la qualité du prélèvement, sa centrifugation, sa conservation et son chargement sur l'analyseur
- 1. La prescription**
- la prescription est un acte médical, fait par des personnes habilitées (médecins, dentiste, sage-femme), elle formalise le choix de l'analyse la mieux adaptée au but poursuivi.
  - Les informations transmises doivent être complètes, claires et précises. Elles comportent:
    - Identité du malade : Nom, prénom, âge, nom de jeune fille.
    - Date et heure du prélèvement
    - Nom et signature du préleveur
    - Nom du prescripteur
    - Le service demandeur
    - Les renseignements cliniques : permettent de guider le biologiste dans la réalisation et l'interprétation des examens demandés, et de proposer des tests complémentaires.

## 2. Prélèvement

Le prélèvement est un acte de soins qui consiste à prélever un échantillon biologique en vue d'analyse dans des conditions d'hygiène et de sécurité pour le patient et le personnel habilité à le faire, Les échantillons biologiques en biochimie correspondent aux liquides biologiques (sanguins, urines ,LCR,liquides de ponction..) ou des prélèvements tissulaires.

### 2.1. Préparation du patient

- Le jeun : Une période de jeûne strict d'au moins 12H est indispensable pour le dosage des triglycérides, .....
- L'heure du prélèvement exp le cortisol à 08 heure.
- Le stress : certaines hormones, glycémie...
- Exercice physique : augmentation de la CPK
- Pose du garrot : la stase veineuse augmente la protidémie d'environ 20% après 5 mn, les transaminases (ALAT, ASAT) et la bilirubine dès la 3ème minute.
- Prise de médicaments : interfèrent avec le paramètre dosé.

### 2.2. Différents types de prélèvements

Type de prélèvement	Exemple de dosage
Sang veineux total	HbA <sub>1c</sub>
Sérum ou plasma	la plupart des paramètres biochimiques (hormones,enzymes...)
Sang artériel	gazométrie
Sang capillaire	Glycémie,dépistage néonatal
Urines	Protéines,ionogramme,créatinine,....
Liquide de ponction(pleurale,ascite,lombaire)	Protides,glucose.....
Sueur	chlore
Biopsie tissulaire (foie,muscle...)	Activité enzymatique,étude moléculaire

### 2.3. Modalités de prélèvement

#### ➤ Le prélèvement sanguin :

Les prélèvements sanguins devraient être réalisés systématiquement à des moments semblables pour pouvoir comparer les résultats et suivre l'évolution.

**a. Veineux** : Effectué par ponction de la veine du pli du coude le plus souvent.

**b. Artérielle** : par ponction au niveau de l'artère radiale ou fémorale à l'aide d'une

seringue héparinée.

**c. Capillaire** : par piqure du bout de doigt ou du talon (sur papier buvard chez le nourrisson)

Le prélèvement doit être réalisé avec un matériel stérile et à usage unique.

### Remarque

- Le sérum est obtenu par centrifugation d'un prélèvement sans anticoagulant.
- Le plasma est obtenu par centrifugation du sang recueilli sur anticoagulant.
- Un sérum hémolysé peut être du à :
  - Pathologie hémolytique (certaines anémies, accidents transfusionnels, paludisme, etc.) ;
  - Manipulation inappropriée d'un échantillon (agitation excessive) ;
  - Aspiration trop rapide du sang au cours du prélèvement ;
  - Pose prolongée d'un garrot ;
  - Utilisation d'aiguilles trop fines.

### ➤ Les anticoagulants

Anticoagulant	Exple de dosage
Héparinate de lithium ou sodium	La plupart des paramètres biochimiques
EDTA (éthylène-diamine- tétra-acétate)	HBA1c, PTH....
Fluore de sodium (inhibiteur de la glycolyse)	glycémie

- **Prélèvement urinaire** : Les analyses urinaires sont effectuées sur des urines de 24heures (protéinurie des 24heures) ou sur une miction du matin ( microalbuminurie, ionogramme urinaire , glucosurie..).  
Le recueil des urines de 24H est souvent préféré en raison des variations importantes de l'élimination de nombreux composés durant le nycthémère.
- **Autres types de prélèvements** : Il s'agit principalement des liquides obtenus par ponction (LCR, liquide d'ascite, pleural, péricardique ou encore synovial).

### 3. Le transport

- Envoyer le bilan au laboratoire dans un délai compatible avec la réalisation de l'analyse.
- Envoyer le bilan au laboratoire à une température compatible avec la réalisation de l'analyse

- Par défaut, le prélèvement doit être acheminé au laboratoire entre 15 et 25 °C.
- Pour certaines analyses spécifiques, le prélèvement doit être acheminé dans la glace (PTH), dans une pochette réfrigérée (Gaz du sang) ou bien à 37° (cryoglobuline ) ou à l'abri de la lumière (Bilirubine).

#### **4. La réception des échantillons**

Les échantillons acheminés au laboratoire sont réceptionnés par un technicien du laboratoire. Ce dernier vérifie l'identification des tubes, leur conformité par rapport aux analyses demandées et le respect des modalités de prélèvement.

Après cette étape, les échantillons biologiques préalablement identifiés, en leur attribuant un numéro unique pour chaque type de demande d'analyse, sont transmis au laboratoire pour le prétraitement et l'analyse technique .

#### **5. La centrifugation**

Pour l'obtention d'un sérum, il faut respecter le temps nécessaire à la formation et à la rétraction du caillot (30 à 60 minutes en l'absence de prise d'anticoagulants par le patient).

L'Organisation Mondiale de la Santé(OMS) conseille une force relative de centrifugation de 1500 t/min minimum pour les échantillons de sérum et de 2500 t/min pour les plasmas pendant 10min.

#### **6. Conservation**

**Le délai de conservation des échantillons biologiques avant leur analyse doit être respecté**

Au laboratoire, les échantillons analysés sont conservés pour une durée déterminée permettant, selon les paramètres et les délais de conservation, un contrôle d'identité, un contrôle de résultat ou le rajout d'une analyse complémentaire.

Exemple : la glycémie

Sur sang total : 30 min sans anti-glycolytique

Après addition d'un inhibiteur de la glycolyse :

- 1 jour entre 20/25°C

-7 jours entre +4/+8 °C

## 7. Sources d'erreurs de l'analyse biochimique

NC pré-analytiques externes (Service de prélèvement)	
A	Non identification des tubes
B	Hygiène et sécurité non respectées
C	Ordre de remplissage des tubes non respecté, très souvent anarchique
D	Homogénéisation des tubes inadéquate
E	Discordance entre analyse demandée et tube utilisé
F	Difficulté d'approvisionnement en matériels de prélèvement
G	Moment de prélèvement inapproprié
H	Durée de la pose du garrot prolongée

NC pré-analytiques internes (Laboratoire de Biochimie)	
I	Renseignements cliniques non précisés
II	Paramètres de prescription non spécifiés/ Difficilement déchiffrables
III	Date et heure des prélèvements non renseignées
IV	Prélèvements inutilisables
V	Identification du patient illisible ou inintelligible
VI	Prélèvement /Recueil urinaire non reçus
VII	Absence du cachet de médecin et/ou de la date de prescription
VIII	Conditions d'acheminement non conformes
IX	Discordance identité du patient sur le tube /Prescription
X	Nombre de tubes insuffisant

L'hémolyse peut influencer le résultat de trois façons :

- Interférences avec les méthodes de dosage colorimétriques :  
Ex : hémoglobine, bilirubine (composés colorés).
- La libération de substances intra-érythrocytaire entraînant une surestimation de l'analyte : potassium, hémoglobine, lactate déshydrogénase (LDH), transaminases.
- Interférences avec les méthodes de dosage enzymatiques :

Libération d'enzymes érythrocytaires qui peuvent interférer fortement avec les réactions mises en œuvre au cours du dosage et, fausser, ainsi fortement les résultats.

## **B. Phase analytique**

Il s'agit de l'étape technique proprement dite de l'analyse. Elle correspond à la série d'étapes permettant l'obtention d'un résultat lors de l'analyse de l'échantillon (vérification des contrôles, du réactifs (validité, conservation, passage des contrôles), préparation de l'automate (calibration, maintenance), chargement des échantillons sur l'automate, application de la technique (respect scrupuleux des procédures et modes opératoires .....),

Cette étape analytique est de mieux en mieux maîtrisée grâce aux progrès techniques réalisés dans le domaine des instruments et de l'automatisation.

### ➤ **Source d'erreurs de la phase analytique**

- Procédure analytique non ou mal suivie.
- Variations environnementales qui affectent l'échantillon (T° ambiante, Humidité,...).
- Qualité de l'eau qui alimente les appareils.
- Mauvaise dilution ou pipetage de l'échantillon ou des réactifs.
- Réactifs non stockés correctement, utilisés après péremption ou contaminés.
- Rendu de résultats quand les tests de contrôles sont hors limites.
- Mauvaise calibration.
- Mauvaise performance analytique de l'automate.
- Méthode de dosage non précise.
- Personnel non qualifié ou fatigué.

## **C. Phase post-analytiques**

Il s'agit de toutes les étapes après l'analyse jusqu'à l'arrivée du compte rendu au clinicien comprenant :

- la validation biologique des résultats,
- l'expression des résultats : claire avec valeurs de référence et méthodes d'analyse précisées,
- le compte rendu d'analyses avec papier en-tête du laboratoire et signature du biologiste,
- la transmission des résultats : confidentialité et fiabilité du système de transmission.

### ➤ **Les variables influençant la phase post-analytique**

- Erreurs de transcription ou saisie des résultats;
- Erreurs de transmission (compte rendu non envoyé; compte rendu non envoyé à la bonne adresse (service))
- Compte rendu illisible.

### **III. Conclusion**

La qualité des analyses de biologie médicale implique la maîtrise des trois phases de l'analyse d'un paramètre biochimique. Chaque phase doit requérir toutes les attentions car elle conditionne de manière importante la qualité du résultat et par là la prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient.

### **Références bibliographiques**

1. DANIELLE DUCHASSAING. Phase pré-analytique en biochimie : processus de maîtrise de la qualité. EMC, biologie médicale.2007
2. J. L .BEAUDEUX. Biochimie Médicale - Marqueurs Actuels Et Prospectives. Lavoisier (2006).
3. M.AUDIGIE, G. F. Principes Des Méthodes d'Analyse Biochimique .Doin édition (2003).
4. M.GAVRILOVIE. Manipulation d'Analyse Biochimique. Doin édition (2006).
5. Internet.