

## INTRODUCTION À LA BIOCHIMIE

### Différentes étapes de l'analyse biochimique

Cours destiné aux étudiants de 3<sup>ème</sup> année médecine

Année universitaire 2020-2021

*Pr Siham Amina HAMMA*

#### 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 différents modes de prélèvements, d'anticoagulants et les recommandations qui leur sont associées.
- Identifier les sources des erreurs de l'analyse biochimique.
- Identifier les pièges à éviter dans l'interprétation d'un résultat biochimique.
- Expliciter le rôle et l'apport du clinicien dans l'interprétation d'un résultat biochimique.

#### Plan du cours

1. Introduction
2. Étapes de l'analyse biochimique
  - 2.1 Phase pré-analytique
    - 2.1.1 Prescription
    - 2.1.2 Prélèvement des échantillons
    - 2.1.3 Conservation et transport des échantillons
    - 2.1.4 Réception et enregistrement des échantillons
  - 2.2 Phase analytique
  - 2.3 Phase post-analytique
3. Sources des erreurs de l'analyse biochimique
  - 3.1 Erreurs de la phase pré-analytique
  - 3.2 Erreurs de la phase analytique
  - 3.3 Erreurs de la phase post-analytique

#### *Références bibliographiques*

## 1. Introduction

Un examen de biochimie médicale humaine est un acte médical qui concourt :

- à la prévention, au dépistage, au diagnostic ou à l'évaluation du risque de survenue d'états pathologiques ;
- à la décision et à la prise en charge thérapeutiques ;
- à la détermination ou au suivi de l'état physiologique ou physiopathologique de l'être humain.

Pour être utiles au praticien, ces informations devront être précises, pertinentes et intégrées de façon appropriée à la décision clinique.

L'examen biochimique se déroule en trois étapes :

- une phase pré-analytique.
- une phase analytique.
- une phase post-analytique.

Chaque étape est importante, son bon déroulement concourt à un rendu de résultat fiable et exploitable par le clinicien.

## 2. Étapes de l'analyse biochimique

### 2.1 Phase pré-analytique

La phase pré-analytique couvre tous les aspects de l'analyse depuis la prescription jusqu'à la mise en œuvre de la méthode d'analyse. Elle comprend le prélèvement de l'échantillon biologique, le recueil des éléments cliniques pertinents, le transport et la conservation de l'échantillon biologique jusqu'à l'endroit où il est analysé.

#### 2.1.1 Prescription

Les analyses de biologie clinique peuvent être attestées si elles ont été prescrites par le dispensateur de soins ayant le patient en traitement, soit :

- un médecin dans le cadre de la médecine générale ou spécialisée
- un dentiste dans le cadre des soins dentaires
- une accoucheuse dans le cadre des soins obstétricaux de sa compétence

La prescription des examens biochimiques doit être rationnelle, en adéquation avec le contexte clinique du patient en conformité avec les recommandations des sociétés scientifiques.

#### 2.1.2 Prélèvement des échantillons

Le patient doit être informé des prélèvements qu'il va subir et des conditions requises. Les procédures du laboratoire précisent pour chaque paramètre biochimique si une préparation spécifique (régime, état de jeûne, prise de médicaments) est nécessaire.

Le matériel de prélèvement utilisé est adapté au patient et au paramètre biochimique à doser. Des aiguilles, seringues et récipients de taille et nature différentes sont utilisés selon l'état physiopathologique du patient (enfant). La nature des additifs (anticoagulants) et des conservateurs, mais aussi le volume à prélever dépendent des paramètres biochimiques et sont décrits dans les procédures de laboratoire.

Les examens biochimiques peuvent être réalisés sur un matériel constitué soit par des prélèvements de liquides biologiques (essentiellement le sang et l'urine, les liquides de ponctions), soit par des prélèvements tissulaires (foie, muscles, peau, trophoblastes...). Toutefois la majorité des examens biochimiques sont réalisés sur le sérum ou le plasma du sang veineux ou sur les urines.

### 2.1.2.1 Sang

- Modes de prélèvements

Il existe plusieurs modes de prélèvement de sang :

- Le prélèvement de sang veineux : Il est réalisé le plus souvent au niveau des veines du pli du coude. Le sang est recueilli dans un tube sec ou contenant un anticoagulant.
- Le prélèvement de sang artériel : Le sang est prélevé dans des seringues héparinées spéciales au niveau de l'artère radiale ou fémorale. Il est principalement recommandé pour l'étude des gaz du sang et les mesures acidobasiques.
- Le prélèvement de sang capillaire : Il est effectué par piqûre au bout du doigt ou du talon (chez le nourrisson). Le sang est le plus souvent recueilli dans des tubes ou sur papier filtre (Dépistage).

- Conditions de prélèvements

Les conditions de prélèvements sont standardisées. Certains facteurs sont à prendre en considération au moment du prélèvement :

- Le jeûne : Les prélèvements sont généralement effectués le matin à jeun. Il s'agit plus d'un usage que d'une règle absolue : certains paramètres biochimiques ne sont pas affectés par la proximité d'un repas (sodium, potassium...), d'autres nécessitent un jeûne strict (12 heures pour les triglycérides).
- Variations au cours du nycthémère : Les variations nycthémérales sont importantes à considérer pour certains dosages (cortisol).
- Position : Le sujet doit se trouver en état de repos, détendu. L'orthostatisme ou la position horizontale peuvent modifier certains dosages (rénine et aldostérone).
- Pose du garrot : Le garrot favorise la stase veineuse et rend la veine proéminente, pour faciliter l'insertion de l'aiguille dans la veine. Le garrot ne doit pas être trop serré et demeurer en place plus d'une minute (risque de stase veineuse et d'hémoconcentration).
- Prise de médicaments : Les effets des médicaments peuvent être de deux ordres. Ils peuvent interférer avec l'analyse elle-même ou déclencher des effets biologiques chez le sujet traité (exemple : élévation de la gamma-glutamyltransférase GGT sous l'effet des oestroprogestatifs).

- Utilisation du prélèvement sanguin

Le sang est recueilli dans un tube contenant ou non un anticoagulant, un inhibiteur de la glycolyse, le choix dépend des paramètres biochimiques à déterminer.

- Sérum : Certains examens biochimiques (électrophorèse des protéines) doivent être réalisés sur sérum. Le sérum est obtenu à partir de prélèvements sanguins sur tubes sec (sans anticoagulant). Après coagulation, le sérum (sans fibrinogène) est séparé du caillot par centrifugation.
- Plasma : La plupart des dosages biochimiques sont réalisés sur plasma. Il est obtenu à partir du sang recueilli sur un anticoagulant puis centrifugé.
- Sang total : Certains paramètres biochimiques sont dosés sur sang total telle que l'hémoglobine glyquée.

- Anticoagulants

Les examens biochimiques réalisés sur sang total ou plasma nécessitent des prélèvements sur tubes additionnés d'anticoagulants. Les anticoagulants les plus couramment utilisés sont :

- Héparine : Anticoagulant par inhibition de la thrombine (le plus souvent héparinate de lithium parfois de sodium ou d'ammonium). Elle convient à la plupart des analyses biochimiques.
- Éthylène-diamine-tétracétate (EDTA) : Complexe le calcium et inhibe la coagulation (le plus souvent K<sub>2</sub>EDTA). L'EDTA ne convient pas au dosage du calcium et inhibe certains dosages (phosphatase alcaline, céruloplasmine, bilirubine).
- Oxalate de sodium ou de potassium : Il inhibe la coagulation par fixation du calcium.
- Fluorure de sodium : Son pouvoir anticoagulant est dû à sa liaison avec les ions calcium. Il est utilisé comme anticoagulant et surtout comme inhibiteur de la glycolyse des globules rouges. Il est en général associé à l'oxalate en raison de son faible pouvoir anticoagulant. Il convient au dosage de la glycémie et le lactate.

#### 2.1.2.2 Urines

On recueille généralement la totalité des urines émises pendant 24 heures dans un bocal contenant un conservateur (merseptyl) afin d'éviter la croissance bactérienne, ou un acide (acide chlorhydrique) pour stabiliser certains métabolites.

Dans certains cas un échantillon unique (miction du matin) est suffisant.

#### 2.1.2.3 Autres prélèvements

- Liquides obtenus par ponction : liquide céphalorachidien (LCR), liquide d'ascite, liquide pleural, liquide gastrique...
- Tissus : ponctions -biopsie (biopsie hépatique, musculaire ou cutanée, prélèvement de trophoblaste par amniocentèse...).
- Calculs urinaires

#### 2.1.3 Conservation et transport des échantillons

La conservation des échantillons avant et après l'analyse dépend de la stabilité des analytes. Tous les prélèvements doivent être considérés comme potentiellement contaminants, toutefois les prélèvements à « haut risque », correspondant à des patients souffrants d'infections dangereuses (hépatite B ou C, syndrome d'immunodéficience humaine VIH) doivent être étiquetés.

Les prélèvements doivent être correctement identifiés et transportés au laboratoire sans délai accompagnés d'un formulaire de demande d'examen. Le respect des règles de transport doit assurer l'intégrité de l'échantillon et la sécurité des personnels.

- Formulaire de demande d'examen

Le formulaire de demande d'examen doit comporter les éléments suivants :

- nom et prénom du patient, sexe et âge (date de naissance) ;
- service /établissement ;
- nom du médecin demandeur
- diagnostic ou contexte clinique ;
- examens demandés ;
- nature du prélèvement ;
- jour et heure du prélèvement ;
- traitements médicamenteux en cours

Les renseignements cliniques fournis par le prescripteur sont utiles à la réalisation correcte de l'analyse et à son interprétation.

### 2.1.4 Réception et enregistrement des échantillons

Lors de la réception, la conformité de l'échantillon aux spécifications du laboratoire est vérifiée. Cela inclut :

- 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 (absence de fuite) ;
- le respect des conditions de transport préconisées ( durée maximale, température).

Les demandes conformes sont enregistrées et reçoivent un numéro d'identification (code-barres) selon une procédure définie par le laboratoire.

La non-conformité se traduit par un défaut d'exécution des analyses. Le prescripteur de l'analyse en est informé afin de prévenir sa répétition.

## 2.2 Phase analytique

Elle correspond au processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique. Toutes les procédures analytiques font l'objet d'une validation analytique (vérification des performances analytiques : précision, justesse, sensibilité, spécificité, interférences...) et d'un contrôle de qualité.

Le contrôle de qualité permet de surveiller constamment les méthodes et les appareils utilisés afin d'assurer une fiabilité constante des résultats rendus. Des échantillons pour le contrôle de qualité sont analysés tous les jours. Les valeurs attendues sont connues et les résultats réels obtenus y sont comparés pour vérifier les performances analytiques des techniques utilisées.

## 2.3 Phase post-analytique

Elle comprend la validation l'interprétation contextuelle du résultat, la communication appropriée du résultat au prescripteur et au patient, dans un délai compatible avec l'état de l'art, associée à une prestation de conseil biologique au clinicien pour l'utilisation du résultats et/ou la poursuite de l'investigation biologique pour affiner le diagnostic/suivi du patient.

- Validation des résultats

La validation des résultats est double ; elle comporte :

- une validation analytique effectuée après avoir pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne.
- et une validation biologique au cours de laquelle le biochimiste s'assure de la cohérence de l'ensemble des résultats des analyses réalisés et leur compatibilité ,pour le même patient, compte tenu de ses caractéristiques physiologiques ( âge ,sexe ...), de son état clinique, des traitements subis et des résultats antérieurs.

Ainsi les renseignements cliniques constituent une aide incontournable pour l'interprétation des résultats et, éventuellement, la poursuite des investigations.

- Expression des résultats et compte rendu

Les résultats des dosages sont émis sur des comptes rendus. L'expression des résultats doit être sans équivoque. Plusieurs mentions doivent être précisées : identité du patient et du prescripteur, la date de prélèvement, la méthode utilisée, les résultats et les unités du dosage, les valeurs de référence, l'interprétation des résultats et la signature identifiable du biochimiste.

## 3. Sources des erreurs de l'analyse biochimique

Des résultats erronés invalident la prise en charge efficiente du patient et risquent d'être source d'actes dommageable pour santé. Le risque d'erreur peut être minimiser par l'adhésion de façon stricte aux

procédures validées qui définissent chaque étape du processus analytique. Des erreurs peuvent survenir lors des différentes phases du processus analytique :

### 3.1 Erreurs de la phase pré-analytique

Plus de deux tiers des erreurs répertoriées dans les laboratoires d'analyses biologiques sont des erreurs se produisant durant la phase pré-analytique. Ces erreurs peuvent impacter la fiabilité des analyses biochimiques et dérouter le clinicien dans sa prise de décision clinique. Les erreurs potentielles sont :

- Erreurs d'identification du prélèvement
- Technique de prélèvement : La prise de sang difficile avec manœuvre de récupération peut être à l'origine d'une hémolyse. L'hémolyse entraîne une augmentation des concentrations plasmatiques du potassium, phosphate, aspartate aminotransférase ASAT. Le dosage d'autres paramètres peut être affecté.
- Agitation trop forte des tubes après prélèvement : Hémolyse
- Maintien du garrot serré trop longtemps : Hémolyse et hémococoncentration.
- Recueil de l'échantillon dans un conditionnement inapproprié : conduit à des résultats erronés, exemple : le prélèvement sur oxalate et EDTA entraîne un dosage faussement abaissé de calcium et de phosphatase alcaline.
- Site de prélèvement inadapté : le prélèvement en aval d'une perfusion intraveineuse peut donner des résultats erronés et induire le prescripteur en erreur
- Conservation incorrecte de l'échantillon : un échantillon sanguin conservé une nuit avant d'être envoyé au laboratoire montrera des taux faussement élevés de potassium, phosphate et de lactate-déshydrogénase, en raison d'une fuite dans le milieu cellulaire.
- Échantillons insuffisants : Il peut s'avérer impossible d'effectuer tous les dosages demandés sur un échantillon de petit volume.

### 3.2 Erreurs de la phase analytique

L'automatisation de la plupart des dosages biochimique a permis de réduire le coût, le temps de l'analyse et aussi une grande partie des erreurs humaines et analytiques.

L'hémolyse peut fausser les résultats d'analyses par diffusion de composés à forte concentration intra-érythrocytaire (tableau 1) ou par un relargage d'enzymes intra-érythrocytaires pouvant dégrader des composants plasmatiques.

Les prélèvements hémolysés, lipémiques et ictériques sont sources d'erreurs analytiques (interférences de dosage par modification des propriétés optiques) dont il faut tenir compte au moment de la validation.

**Tableau 1 :** Exemples de ratio de concentration globulaire/concentration plasmatique de certains analytes.

Analyte	Ratio conc globulaire / conc plasmatique
<b>LDH (Lactate DesHydrogénase)</b>	<b>160</b>
<b>K (potassium)</b>	<b>25</b>
<b>GOT-ASAT (aspartate amino-transférase)</b>	<b>20</b>
<b>GPT-ALT (alanine amino-transférase)</b>	<b>5</b>
<b>Mg (magnésium)</b>	<b>2.5</b>

### 3.3 Erreurs de la phase post-analytique

Il s'agit le plus souvent d'erreurs de transcription des résultats.

La plupart des erreurs qui surviennent sont normalement détectées par les procédures de contrôle de qualité, grâce aux logiciels de gestion des résultats ou à la vigilance des biologistes validant les bilans.

#### *Références bibliographiques*

- J-L Beaudoux, G Durand. Biochimie médicale. 2e édition. Paris : Médecine Sciences publications Lavoisier ; 2011.
- D Bonnefont- Rousselot, J-L Beaudoux. Explorations en biochimie médicale : Interprétations et orientations diagnostics. Paris : Médecine Sciences publications Lavoisier ; 2019.
- A Gawl, M J Murphy, R A Cowan. Biochimie clinique. Paris: Elsevier ; 2004.
- B Hainque, B Baudin, P Lefebvre. Appareils et méthodes en biochimie et en biologie moléculaire. Médecine-Sciences Flammarion ; 2008.
- W J Marshall, S K Bangert. Biochimie médicale : Physiopathologie et diagnostics. Paris : Elsevier ; 2004.