

Conservation des échantillons biologiques avant et après centrifugation : effet de la nature des tubes, de la température et du délai avant analyse

C.ODDOZE^{1,2}, E.LOMBARD^{1,2}, H.PORTUGAL^{1,2}

RÉSUMÉ

La restructuration des laboratoires de biologie médicale, la multiplication des sites de prélèvement, la concentration des plateaux techniques, l'accréditation réglementaire de l'ensemble des phases de réalisation des examens (y compris la phase pré-analytique) nécessitent une maîtrise de la qualité des échantillons biologiques avant analyse. Les conditions d'acheminement (nature des tubes, délai, température, effet de la centrifugation) ont été évaluées pour 81 paramètres de biochimie, endocrinologie, hématologie et coagulation. Si, pour la plupart des paramètres testés, un délai pré-analytique de l'ordre de 24 heures est acceptable, certains d'entre eux imposent une exigence stricte en termes de délai ou de température en fonction du type de tube. Malgré des données bibliographiques, souvent divergentes, la maîtrise de la qualité des prélèvements demeure une préoccupation majeure des biologistes et une question d'actualité.

MOTS-CLÉS : pré-analytique, échantillons biologiques, conditions de transport, conservation, centrifugation.

I. - INTRODUCTION

Dans le cadre de l'accréditation réglementaire des laboratoires de biologie médicale, le référentiel de la Norme NF EN ISO 15189 (1) précise dans le paragraphe 5.4 que :

- « Des instructions spécifiques relatives au prélèvement et à la manipulation des échantillons primaires doivent être documentées et mises en œuvre. Ces instructions doivent figurer dans un manuel de prélèvement des échantillons primaires.
- Le manuel de prélèvement doit comprendre des instructions sur tout besoin de manipulation particulière entre le moment du prélèvement et le moment de la réception par le laboratoire (exigence de transport, réfrigération, chauffage, livraison immédiate, etc.), des instructions concernant le stockage des échantillons examinés, les délais pour prescrire une analyse complémentaire.

- Le laboratoire doit s'assurer que les échantillons ont été transportés au laboratoire en respectant un délai approprié à la nature des analyses, ... et à une température spécifiée dans le manuel de prélèvement.

- Les échantillons doivent être stockés pendant une durée spécifiée dans des conditions garantissant la stabilité de leurs propriétés afin de permettre la répétition de l'analyse après le compte rendu du résultat ou des analyses complémentaires ».

¹ Laboratoire de Biochimie Endocrinienne - Hôpital de la Timone AP-HM, 264 rue Saint Pierre, 13385 Marseille Cedex 05.

² Aix-Marseille Université. Faculté de Pharmacie, 27 bd Jean Moulin, 13385 Marseille Cedex 05.

Par ailleurs, dans son article L.6211-11 (2), l'ordonnance du 13 janvier 2010 stipule que : « le biologiste responsable du laboratoire de biologie médicale auquel le patient s'est adressé conserve la responsabilité de l'ensemble des phases de l'examen de biologie médicale, y compris lorsque l'une d'elles est réalisée en dehors d'un laboratoire de biologie médicale ».

Avec le développement de centres de prélèvement de proximité, avec le regroupement des laboratoires en plateaux techniques, que ce soit en secteur privé ou public, des précautions sont à prendre pour respecter l'intégrité des échantillons biologiques pendant leur transport avant analyse. Le processus pré-analytique souvent réalisé à l'extérieur du laboratoire est difficile à maîtriser par le biologiste : des exigences et des recommandations doivent donc être diffusées aux personnels responsables des prélèvements et des transports.

De même, au sein du laboratoire, des consignes précises doivent être établies quant à la conservation des échantillons avant analyse : conditions de report d'analyses, de ré-analyses ou d'ajout d'analyses.

La stabilité d'un échantillon est définie comme sa capacité à conserver la valeur initiale d'un mesurande pour une période définie à l'intérieur de limites acceptables et sous des conditions de conservation définies.

Des études de stabilité des échantillons biologiques ont été publiées dans la littérature (3-15), mais elles sont souvent incomplètes (peu de paramètres étudiés) ou discordantes (critères d'interprétation des stabilités non homogènes). Si les recommandations publiées par l'OMS (16) font autorité, elles correspondent à une méta-analyse des données de la littérature et indiquent parfois des stabilités incompatibles avec les transports des échantillons en pratique courante (exemple : stabilité du potassium sur sang total inférieure à 1 h).

Le travail présenté ici a pour objet de proposer des critères de stabilité avant et après centrifugation, pour 81 paramètres de biochimie, endocrinologie, hématologie et coagulation. L'étude porte notamment sur la nature du tube de prélèvement, le délai avant analyse, et la température de conservation.

II. - MATÉRIEL ET MÉTHODES

A) Protocole

- Quatre variables pré-analytiques sont prises en compte :
- la nature du tube de prélèvement,
 - la durée de conservation du prélèvement avant analyse,
 - la température de conservation du prélèvement avant analyse : $4 \pm 2^\circ\text{C}$ (chambre froide) et $25 \pm 2^\circ\text{C}$ (température ambiante : TA),
 - et la conservation avant centrifugation (sang total) ou après centrifugation (sérum ou plasma).

B) Paramètres, analyseurs, tubes, délais avant analyse (Tableaux I à IV)

Tableau I - Paramètres étudiés.

BIOCHIMIE (n = 39)		
Na	Cholestérol total	Phosphatases alcalines
K	Cholestérol HDL	Amylase
Cl	Cholestérol LDL	Lipase
Bicarbonates	Triglycérides	ApoA1
Protéines totales	Phospholipides	ApoB
Albumine	Fructosamine	CRP
Calcium	HbA1c	Haptoglobine
Magnésium	ASAT	Alpha2macroglobuline
Fer	ALAT	Transferrine
Phosphore	CK	Myoglobine
Urée	LDH	Récepteur soluble de la transferrine
Glucose	Acide urique	Lactates
Créatinine	Gamma GT	
Bilirubine totale		
HORMONOLOGIE (n = 23)		
TSH	Cortisol	LH
T3 libre	DHEA sulfate	FSH
T4 libre	Peptide C	Prolactine
Ostéocalcine	Insuline	Estradiol
C-télopeptide	IGF1	Testostérone
Vitamine D	HGH	SHBG
Vitamine B12	ACTH	Progestérone
Folates sériques	PTH	
HÉMATOLOGIE (n = 12)		
Hématies	CCMH	Poly. éosinophiles
Hémoglobine	TCMH	Lymphocytes
Hématocrite	Leucocytes	Monocytes
VGM	Poly. neutrophiles	Plaquettes
HÉMOSTASE (n = 7)		
T P	Fibrinogène	Facteur II
TCA	AT3	Facteur V
		Facteur X

Tableau II - Analyseurs.

Biochimie standard MODULAR PP (Roche) Rxl Dimension (Siemens) BNProspec (Siemens)	Hormonologie COBAS 6000 (Roche) LIAISON (Diasorin)
HbA1c G5 (Tosoh)	Hématologie ADVIA 120 (Siemens)
	Hémostase S.T.A.R. (Stago)

Tableau III - Tubes*.

Biochimie standard Sec (réf 367614 verre) Gel SST II (réf 367957 plastique) Gel héparinate de lithium (réf 368497 plastique)	Hormonologie Sec (réf 367614 verre) EDTA K3 (réf 368860 plastique) Gel SST II (réf 367957 plastique)
Glycémie, lactates Fluorure de sodium (réf 368521)	Hématologie EDTA K3 (réf 368860 plastique)
	Hémostase CTAD (réf 367599)

* Tubes Becton Dickinson (BD).

Tableau IV - Délais avant analyse.

Biochimie standard T 0, T 2 h, T 4 h, T 6 h, T 8 h, T 24 h	Hormonologie T 0, T 6 h, T 24 h, T 72 h
Hématologie et hémostase T 0, T 6 h, T 24 h	ACTH T 0, T 4 h, T 8 h, T 12 h, T 16 h, T 24 h

Tableau V - Paramètres stables.

PARAMÈTRES	CONSERVATION AVANT CENTRIFUGATION SANG TOTAL		CONSERVATION APRÈS CENTRIFUGATION SÉRUM/PLASMA	
	4°C	25°C	4°C	25°C
BIOCHIMIE				
MODULAR : Acide urique, Albumine, Amylase, ASAT, ALAT, Bilirubine totale, Calcium, Cholestérol total, Créatinine, CK, Fer, Fructosamine, GGT, HDL-C, Ionogramme (Na/Cl), LDL-C, Lipase, Phosphatases alcalines, Phospholipides, Protéines totales, Triglycérides, Urée	Sec 24 h	Sec 24 h	Sec 24 h	Sec 24 h
BNPROSPEC : Apo A1, Apo B, Haptoglobine, α 2-Macroglobuline, Récepteur soluble de la transferrine, Transferrine	Hép. de Li > 8 h*	Hép. de Li > 8 h*	Hép. de Li > 8 h*	Hép. de Li > 8 h*
RXL Dimension : Myoglobine, Protéine C réactive			SST 24 h	SST 24 h
G8 : HbA1c	EDTA K3 72 h	EDTA K3 72 h		
HORMONOLOGIE				
COBAS : Cortisol, DHEA, LH, Progestérone, SHBG, Testostérone, T3 libre, T4 libre, TSH, Vitamine B12	Sec 72 h EDTA K3 72 h	Sec 72 h EDTA K3 72 h	Sec 72 h EDTA K3 72 h	Sec 72 h EDTA K3 72 h
LIAISON : HGH, IGF1, Vitamine D			SST 72 h	SST 72 h
HÉMATOLOGIE COAGULATION				
ADVIA 120 : Globules rouges, Hémoglobine, Hématocrite, TCMH, Plaquettes, Globules blancs, Polynucléaires neutrophiles, Polynucléaires éosinophiles, Lymphocytes, Monocytes.	EDTA K3 24 h CTAD 24 h	EDTA K3 24 h CTAD 24 h	CTAD 24 h	CTAD 24 h
STA-R : Fibrinogène, TP, AT 3, Facteurs II, X, V				

* : testé jusqu'à 8 h.

C) Échantillons biologiques

Les essais ont porté sur des échantillons frais non aliquotés, prélevés sur des volontaires sains. Pour chacun des 81 paramètres, les résultats ont été établis à partir des échantillons de 10 individus différents, ce qui a représenté environ 20 000 dosages.

Un maximum de 115 ml de sang (23 tubes) a été prélevé au pli du coude à chaque volontaire, ce qui est sans danger pour le donneur.

La centrifugation des prélèvements a respecté les recommandations du fournisseur de tubes (Becton Dickinson), soit 2 000 g pendant 10 mn à 20°C sauf pour l'ACTH (centrifugation à 2 600 g pendant 10 mn à + 5°C).

Pour l'étude de stabilité sur sang total, les tubes primaires ont été conservés après la prise de sang, soit à 4°C soit à TA, puis centrifugés après le délai choisi et analysés immédiatement.

Pour l'étude de stabilité sur sérum ou sur plasma, les tubes ont été centrifugés soit immédiatement (stabilité sur plasma), soit 30 mn après la prise de sang (stabilité sur sérum).

Pour l'étude de stabilité sur sang total, les tubes de prélèvements ont été conservés sans séparation des éléments figurés du sang, à la température et pendant le délai choisis.

Toutes les analyses ont été effectuées sur les tubes primaires non aliquotés, pour éviter toute introduction de biais.

Tableau VI - Paramètres instables en biochimie.

PARAMÈTRES	To	VLTA		Tubes	SANG TOTAL		SÉRUM/PLASMA	
		%	USI		4°C	25°C	4°C	25°C
Bicarbonate	28,9 mmol/l	± 8,61	± 2,5	Sec	24 h	24 h	24 h	24 h
				SST	24 h	24 h	6 h	4 h
				Héparinate li	24 h	24 h	6 h	4 h
Glucose	4,73 mmol/l	± 4,5	± 0,21	Sec	2 h	< 2 h	6 h	4 h
				SST	2 h	< 2 h	24 h	24 h
				Héparinate li	< 2 h	< 2 h	> 8 h*	4 h
				Na-Fluorure	24 h	24 h	24 h	24 h
Lactate	1,33 mmol/l	± 17,8	± 0,23	Na-Fluorure	24 h	6 h	24 h	24 h
LDH	158 UI/L	± 6,4	± 10	Sec	4 h	< 2 h	24 h	24 h
				SST	< 2 h	< 2 h	24 h	24 h
Magnésium	0,86 mmol/l	± 5,5	± 0,05	Sec	24 h	6 h	24 h	24 h
				SST	24 h	24 h	24 h	24 h
				Héparinate li	> 8 h*	> 8 h*	> 8 h*	> 8 h*
Phosphate	1,09 mmol/l	± 5,2	± 0,06	Sec	24 h	6 h	24 h	6 h
				SST	24 h	24 h	24 h	24 h
				Héparinate li	< 6 h	< 4 h	> 4 h**	> 4 h**
Potassium	4,3 mmol/l	± 2,8	± 0,12	Sec	< 2 h	4 h	6 h	24 h
				SST	< 2 h	2 h	> 8 h	24 h
				Héparinate li	< 2 h	< 2 h	4 h	4 h

* : testé jusqu'à 8 h. ** : testé jusqu'à 4 h.

Tableau VII - Paramètres instables en hématologie et coagulation.

ANALYTES	To	VLTA		Tubes	SANG TOTAL		SÉRUM/PLASMA	
		%	USI		4°C	25°C	4°C	25°C
VGM	85,2 fl	± 1,67	± 1,4	EDTA K3	24 h	6 h		
CCMH	21,1 mmol/L Er	± 2,82	± 0,6	EDTA K3	24 h	6 h		
TCA	32 sec	± 5,28	± 1,7	CTAD	6 h	6 h	6 h	6 h

D) Étude statistique

Selon l'OMS (16), l'instabilité peut être mesurée par la différence en valeur absolue, par le rapport ou par le pourcentage de différence entre la valeur initiale (T0) et la valeur obtenue au bout d'un délai (Tx).

Chaque analyte a été mesuré sur dix échantillons de donneurs différents, à T0 et après un délai Tx, conservés dans les mêmes conditions pré-analytiques. Le pourcentage moyen des différences $[(Tx - T0)/T0] \times 100$ a été calculé et comparé à la variation limite totale acceptable (VLTA).

La VLTA au cours de la conservation est calculée pour chaque paramètre et est exprimée en % et en valeur absolue. La VLTA tient compte de deux critères :

□ la variabilité analytique exprimée selon la norme ISO 5725-6 (17) :

variabilité analytique limite = $\pm 2,77 CV_a$
(CV_a = CV de fidélité intermédiaire),

□ la variabilité biologique exprimée selon Ricos *et al.* (18) :

variabilité biologique limite = $\pm 0,5 CV_b$
(CV_b = CV intra-individuel).

La VLTA est estimée par la racine carrée de la somme quadratique des variabilités limites analytique et biologique :

$$VLTA = [(2,77 CV_a)^2 + (0,5 CV_b)^2]^{0,5}$$

Le CV de fidélité intermédiaire retenu correspond à la moyenne des CV de nos contrôles de qualité interne sur 6 mois tous niveaux confondus (bas, moyen, élevé). Ainsi, si le pourcentage moyen des différences $[Tx - T0/T0] \times 100$

Tableau VIII - Paramètres instables en hormonologie.

ANALYTES	To	VLTA		Tubes	SANG TOTAL		SÉRUM/PLASMA	
		%	USI		4°C	25°C	4°C	25°C
ACTH	4,72 pmol/L	± 7,45	± 0,35	EDTA K3	24 h	4 h		
C-Telopeptide	0,41 ng/ml	± 8,4	± 0,03	Sec	6 h	< 6 h	6 h	< 6 h
				SST			6 h	< 6 h
				EDTA K3	72 h	72 h	72 h	72 h
Estradiol	168 ng/ml	± 13,9	± 9,5	Sec	72 h	72 h	72 h	72 h
				SST			72 h	48 h
				EDTA K3	72 h	72 h	72 h	72 h
Folate	14,1 nmol/l	± 22,4	± 2,48	Sec	72 h	48 h	72 h	72 h
				SST			72 h	48 h
FSH	12,7 UI/L	± 9,8	± 0,12	Sec	72 h	72 h	72 h	72 h
				SST			72 h	72 h
				EDTA K3	72 h	48 h	72 h	72 h
Insuline	10,6 mUI/l	± 14,4	± 1,52	Sec	72 h	6 h	72 h	6 h
				SST			72 h	6 h
				EDTA K3	72 h	72 h	72 h	48 h
Osteocalcine	27,0 ng/ml	± 8,9	± 2,4	Sec	24 h	< 6 h	48 h	< 6 h
				SST			6 h	< 6 h
				EDTA K3	48 h	6 h	72 h	6 h
Peptide C	0,73 nmol/L	± 9,5	± 0,07	Sec	72 h	6 h	72 h	24 h
				SST			72 h	48 h
				EDTA K3	72 h	24 h	72 h	24 h
Prolactine	236 mU/L	± 6,6	± 15,6	Sec	72 h	72 h	72 h	72 h
				SST			72 h	72 h
				EDTA K3	72 h	24 h	72 h	72 h
PTH	5,85 pmol/L	± 16,0	± 0,93	Sec	72 h	6 h	72 h	6 h
				SST			72 h	6 h
				EDTA K3	72 h	72 h	72 h	72 h

excède la VLTA, on peut considérer que la différence est significative et que le paramètre a dépassé la limite de stabilité retenue.

III. - RÉSULTATS

Les pourcentages moyens de différences entre T0 et Tx (%) sont comparés à la VLTA et la durée de stabilité des paramètres testés est présentée dans les tableaux V à VIII.

A) Les paramètres présentant une bonne stabilité sont les suivants (Tableau V) :

En biochimie, 32 paramètres (Na, Cl, protéines totales, albumine, Ca, Fe, urée, créatinine, acide urique, bilirubine

totale, cholestérol total, cholestérol HDL, cholestérol LDL, triglycérides, phospholipides, fructosamine, ASAT, ALAT, CK, CRP, gamma GT, phosphatases alcalines, amylase, lipase, apo A1, apo B, haptoglobine, α_2 -macroglobuline, transferrine, récepteur soluble de la transferrine, myoglobine et HbA1c) sont stables 24 h sur sang total et après centrifugation, que le prélèvement soit effectué sur tube sec ou sur tube héparinate de lithium (tube EDTA K3 pour HbA1c) et conservé à 4°C ou à TA.

En hormonologie, 13 paramètres (T3 libre, T4 libre, TSH, vitamine D, LH, testostérone, SHBG, progestérone, vitamine B12, cortisol, DHEA, IGF 1, HGH) sont stables sur sang total et après centrifugation au moins 72 h, que le prélèvement soit effectué sur tube sec, sur tube SST ou sur tube EDTA K3, et conservé à 4°C ou à RT.

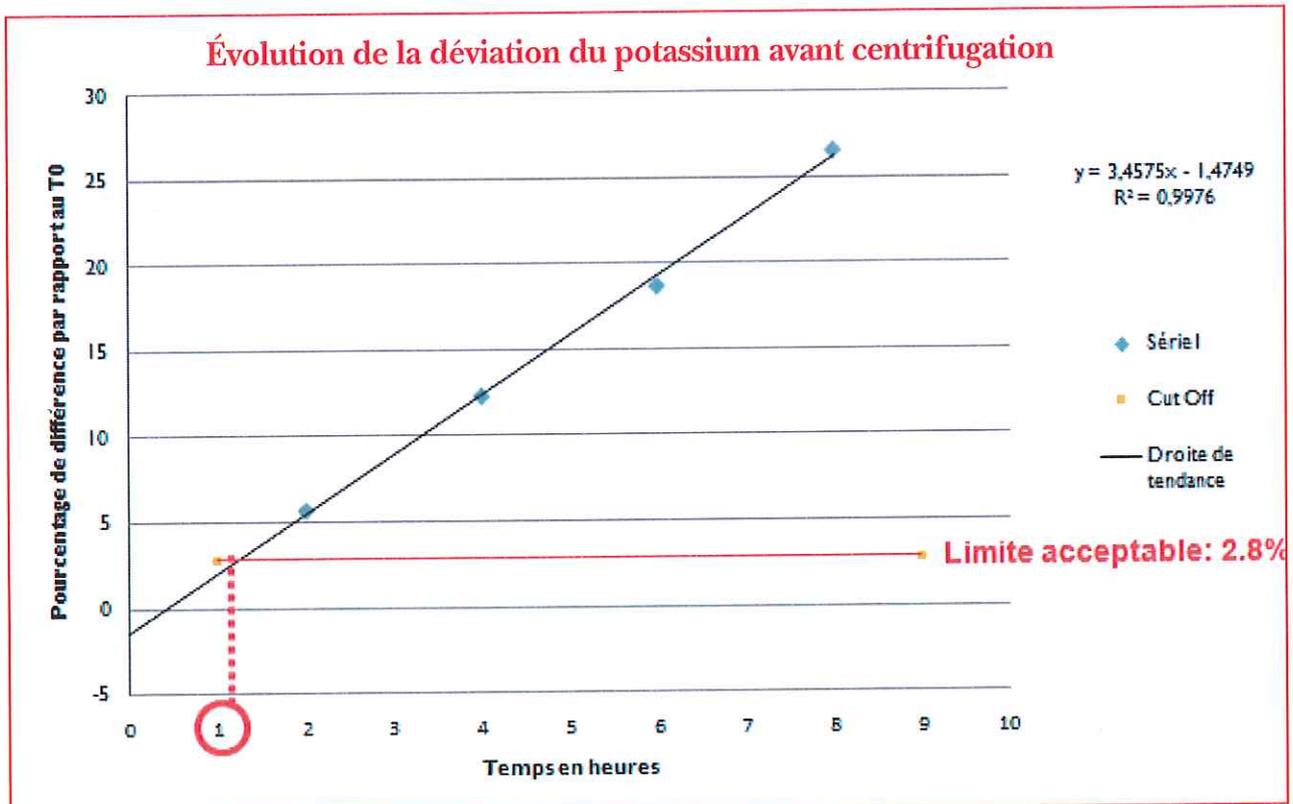


Fig 1 - Évolution de la déviation du potassium avant centrifugation sur tube sec à 4°C.

En hématologie, 7 paramètres (hématies, hémoglobine, hémocrite, TCMH, plaquettes, leucocytes, formule leucocytaire) sont stables au moins 24 h, que la conservation soit à 4°C ou à TA.

En coagulation, 6 paramètres (TP, fibrinogène, AT3, facteur II, facteur V, facteur X) sont stables au moins 24 h, que la conservation soit à 4°C ou à TA, sur sang total ou après centrifugation.

B) 20 paramètres se sont révélés affectés par la conservation :

- 7 en biochimie (Tableau VI : glucose, bicarbonates, lactates, LDH, magnésium, phosphate, K).
- 3 en hématologie et coagulation (Tableau VII : VGM, CCMH, TCA).
- 10 en hormonologie (Tableau VIII : ACTH, C-télopeptide, estradiol, folates, FSH, prolactine, insuline, ostéocalcine, peptide C, PTH).

IV. - DISCUSSION

Le choix des limites d'acceptabilité est complexe. En effet, il existe dans la littérature plusieurs référentiels peu comparables et souvent incomplets, ne couvrant pas la totalité des paramètres. Ces référentiels reposent, soit sur le test t des différences, soit sur la variabilité analytique, soit sur la variabilité biologique.

Le test t des différences, lorsque la variabilité est établie sur 10 essais, devient significatif quand il dépasse le seuil de 2,26 pour $p < 0.05$. Cependant, pour un échantillon aussi faible, ce test peut devenir significatif quand la variance des différences est très petite bien que les écarts soient faibles ; il est donc mal adapté, car il met en évidence des différences statistiquement significatives qui n'ont aucun impact sur l'interprétation clinique.

La variabilité analytique est exprimée selon la norme ISO 5725-6 (17) par : $\pm 2,77 CVa$ (CVa est le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire).

La variabilité analytique peut être également choisie en fonction de l'état de l'art : les tables fournies par le protocole VALTEC de la Société Française de Biologie Clinique (SFBC) (19), donnent les CV obtenus par 50 % des laboratoires les plus performants parmi les participants aux différents programmes de contrôle de qualité intra- et inter-laboratoires. Cependant, ces résultats publiés en 1999 ont été obtenus avec les techniques et sur les analyseurs disponibles à cette époque. Des améliorations importantes ont été apportées depuis et on peut penser que les CV sont plus faibles à l'heure actuelle.

D'autres référentiels analytiques (GFMC (20), CLIA (21), QUALAB (22)) donnent des valeurs assez larges qui représentent des limites utilisées pour l'évaluation légale des performances des laboratoires.

La variabilité biologique intra- et inter-individuelle est donnée dans les tables de Ricos *et al.* (18). Selon Fraser *et*

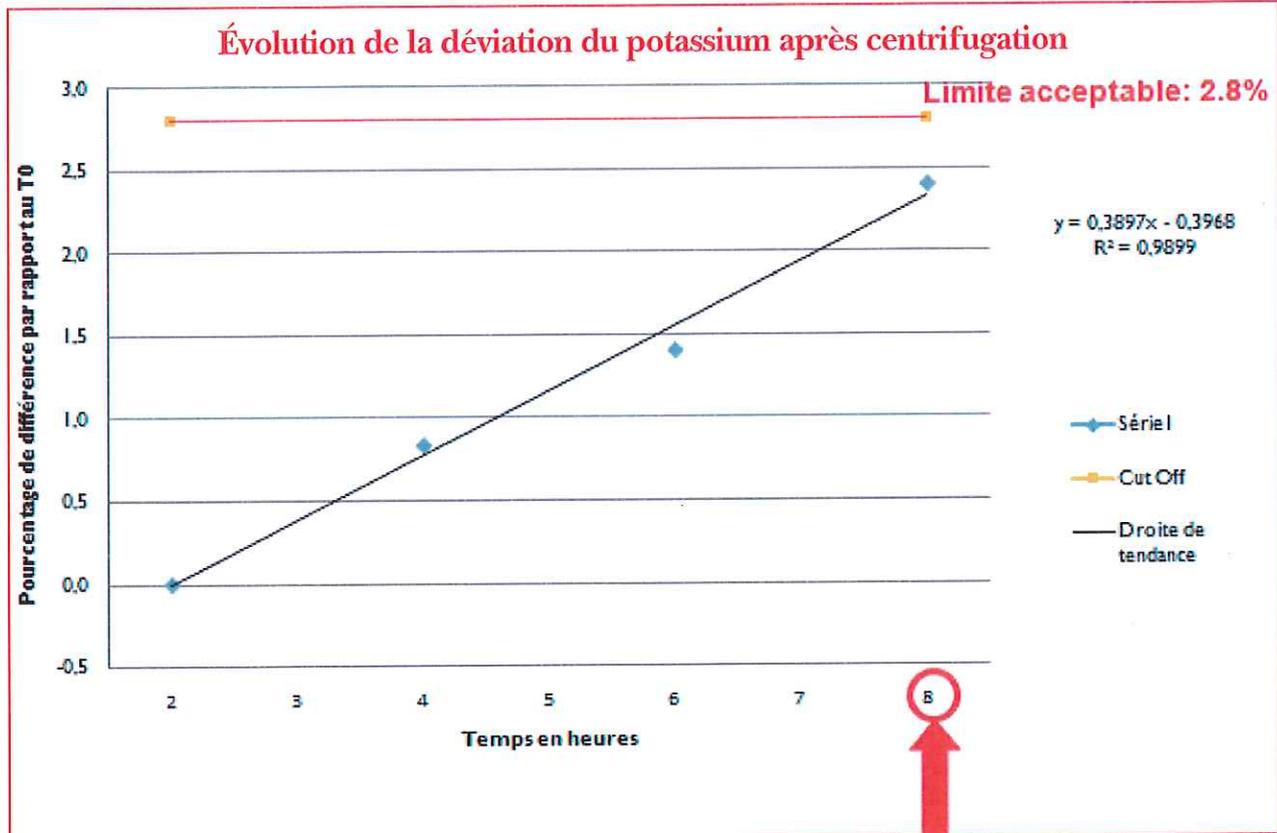


Fig 2 - Évolution de la déviation du potassium après centrifugation sur tube sec à 4°C.

al. (23), la fidélité d'une méthode doit être inférieure à la moitié de la variabilité biologique intra-individuelle (que l'on appellera CVb) : $\pm 0,5 CVb$.

Pour évaluer les changements dus à l'instabilité d'un paramètre, pour un même échantillon d'un même individu, nous avons donc combiné les deux approches : la variabilité analytique et la variabilité biologique intra-individuelle. Cette Variabilité Totale (VLTA) est estimée par la racine carrée de la somme des carrés de chacune des variabilités analytique et biologique : $VLTA = [(2,77 CVa)^2 + (0,5 CVb)^2]^{0.5}$.

L'application de cette expression de la VLTA a permis d'évaluer la conservation des échantillons biologiques en fonction des facteurs temps, température, type de tube et contact avec les éléments figurés du sang.

Nos données montrent que la température joue un rôle important. À 4°C sur tube sec non centrifugé, on observe une augmentation considérable du potassium (K) en fonction du temps : environ 9 % au bout de 2 h et jusqu'à 132 % au bout de 24 h, alors que la VLTA est de 2,8 %. Cette augmentation est également sensible sur sérum. La conservation est meilleure (> 8 h) sur tube avec gel séparateur (SST) (Figures 1 et 2).

À 25°C, le K est plus stable : 4 h sur sang total et 24 h sur sérum ou plasma.

Cette différence est liée au contact prolongé du plasma ou du sérum avec les éléments figurés du sang, riches en constituants intracellulaires comme le K, mais également le phosphate, le magnésium et les LDH.

Concernant le K, il y a également une inhibition de la pompe Na-K ATPase induite par les basses températures (4°C), ce qui conduit à une augmentation du relargage du K intracellulaire.

Inversement, phosphore, magnésium, LDH et glucose sont plus stables à basse température (4°C) qu'à TA.

Sur tube sec et SST, nous observons que les variations des LDH sur sang total, dues au changement de perméabilité de la membrane cellulaire, sont très importantes et dépassent notre VLTA après 4 h. La VLTA de 6,4 % est inférieure à la limite acceptable retenue (9,5 %) par Zhang *et al.* (8) ce qui explique la meilleure stabilité des LDH observée par ces auteurs.

Enfin, la glycolyse intracellulaire provoque une diminution du glucose avec production de lactates. C'est pourquoi la diminution du glucose s'accompagne d'une augmentation proportionnelle des lactates. Cette glycolyse est inhibée par le fluorure de sodium, ce qui explique la meilleure stabilité de ces deux paramètres lorsqu'ils sont prélevés sur tubes fluorés. Par ailleurs, la glycolyse est ralentie à basse température (4°C).

Il en est de même pour deux paramètres d'hématologie, le VGM et la CCMH.

L'augmentation du VGM parallèlement à la diminution de la CCMH (4,8 et 4,9 %) après 24 h à TA, a déjà été décrite par Imeri *et al.* (11).

Pour le TCA, la VLTA calculée est de 5,3 % et correspond à un délai maximum de 6 h à 4°C et à TA. Zurcher *et al.* (27), en utilisant 10 % comme limite de variabilité, observent une meilleure stabilité avec un délai de conservation plus long.

En hormonologie, l'instabilité de l'estradiol a déjà été décrite comme étant dépendante du volume d'échantillon (24, 25, 26).

La température de conservation des échantillons en hormonologie, a une importance capitale pour certains paramètres.

Sur sang total et en tube sec, la diminution de l'insuline est faible à TA, permettant une conservation acceptable pendant 6 h, mais cette conservation peut être prolongée jusqu'à 72 h à 4°C. Le même effet de la température est observé après centrifugation. Par ailleurs, l'insuline est également très sensible à l'hémolyse (libération de l'insuline intra-érythrocytaire).

Avant ou après centrifugation, la durée de stabilité du peptide C, de la PTH, des folates sériques et de l'ostéocalcine, est améliorée à 4°C par rapport à la TA.

Cette étude montre qu'à l'exception de l'ACTH (24 h) et de l'ostéocalcine (48 h), toutes les hormones étudiées sont stables au moins 72 h si le prélèvement est réalisé sur EDTA K3 et conservé sur sang total à 4°C.

V. - CONCLUSION

Il est important de connaître les conditions optimales de stabilité d'un paramètre avant analyse. La nécessité de transporter des prélèvements entre les sites impose de savoir si une centrifugation immédiate est nécessaire. D'autre part, la diminution des manipulations pré-analytiques réduit le nombre de variables incontrôlables et permet un gain de temps. La maîtrise de l'ensemble de ces paramètres pré-analytiques contribue fortement à l'amélioration du processus de réalisation analytique.

Dans ce travail, nous avons proposé une approche standardisée pour évaluer l'impact de la phase pré-analytique sur la qualité des résultats d'une grande majorité des paramètres de biologie médicale courants. Cette approche peut être facilement étendue à d'autres paramètres par tous les laboratoires afin de compléter au maximum cette base de données. Chaque laboratoire peut utiliser ses propres fidélités analytiques (CVa) inhérentes à leurs techniques et analyseurs pour calculer leurs limites acceptables.

Nous sommes conscients que cette étude a été réalisée sur des sujets « sains » et qu'il est possible que les stabilités puissent être (légèrement) différentes en cas de pathologie.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) ISO 15189 : Laboratoires d'analyses de biologie médicale. Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. 2007.
- (2) Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale.
- (3) Laessig RH, Indrikson DJ, Hassemer AA, Paskey TA, Schwartz TH. Changes in serum chemical values as a result of prolonged contact with the clot. *Am J Clin Path* 1976 ; 66 : 598-604.
- (4) Ono T, Kitaguchi K, Takehara M, Shiiba M, Hayami K. Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clin Chem* 1981 ; 27 (1) : 35-8.
- (5) Chu SY, MacLeod J. Effect of three-day clot contact on results of common biochemical tests with serum. *Clin Chem* 1986 ; 32 : 2100.
- (6) Rehak NN, Chlang BT. Storage of whole blood. Effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum. *Clin Chem* 1988 ; 34 (10) : 2111-4.
- (7) Heins M, Heil W, Withold W. Storage of serum or whole blood samples? Effect of time and temperature on 22 serum analytes. *Eur J Clin Chem Biochem* 1995 ; 33 : 231-8.
- (8) Zhang DJ, Elswick RK, Miller WG, Bailey JL. Effect of serum-clot contact time on clinical chemistry laboratory results. *Clin Chem* 1998 ; 44 (6) : 1325-33.
- (9) Zwart SR, Wolf M, Rogers A, Rodgers S, Gillman PL, Hitchcox K, Ericson KL, Smith SM. Stability of analytes related to clinical chemistry and bone metabolism in blood specimens after delayed processing. *Clin Biochem* 2009 ; 42 : 907-10.
- (10) Evans MJ, Livesey JH, Ellis MJ, Yandle TG. Effect of anticoagulants and storage temperatures on stability of plasma and serum hormones. *Clin Biochem* 2001 ; 34 : 107-12.
- (11) Imeri F, Herklotz R, Risch L, Arbeitsleitner C, Zerlauth M, Risch GM, Huber AR. *Clin Chim Acta* 2008 ; 397 : 68-71.
- (12) Parent X, Alenabi F, Brignon P, Souberbielle JC. Delayed measurement of PTH in patients with CKD: storage of the primary tube in the dialysis unit, which temperature, which kind of tube? *Nephrol Ther* 2009 ; 5 : 34-40.
- (13) Ellis MJ, Livesey JH, Evans MJ. Hormone stability in human whole blood. *Clin Biochem* 2003 ; 36 : 109-12.
- (14) Boyanton BL, Blick KE. Stability studies of twenty-four analytes in human plasma and serum. *Clin Chem* 2002 ; 48 (12) : 2242-7.
- (15) Klee GG. Establishment of outcome-related analytic performance goals. *Clin Chem* 2010 ; 56 (5) : 714-722.
- (16) Quality of diagnostic samples. Recommendations of the Working Group on Preanalytical Quality of the German Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. WHO/DIL/LAB.99.1 Rev. 2, 2009, 3rd Edition 85 p.
- (17) ISO 5725-6: Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part 6: Use in practice of accuracy values, 1994.
- (18) Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV. Desirable quality specifications for total error, imprecision, and bias, derived from biological variation. <http://www.Westgard.com/biodatabase1.htm>. Accessed on June 5, 2009.
- (19) Vassault A, Grafineyer D, De Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann Biol Clin* 1999 ; 57 (6) : 685-95.
- (20) Guidelines for the quality assurance of quantitative medical laboratory tests. In accordance with the resolution of the GFMC. *Deutschen Arzteblatt* 2001 ; 98 (42) : 2747-59.
- (21) CLIA requirement for analytical quality-CDC, US department of Health and human services, Clinical Laboratory Improvement Amendments. <http://www.Westgard.com>
- (22) Concept assurance qualité dans le laboratoire médical version 1.1. Commission suisse pour l'assurance de qualité dans le laboratoire médical. www.qualab.ch 6 Centre Suisse de Contrôle de qualité. www.cscq.ch
- (23) Fraser CG, Petersen PH, Ricos C, Haeckel R. Proposed quality specifications for the imprecision and inaccuracy of analytical systems for clinical chemistry. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1992 ; 30 : 311-7.
- (24) Reinartz JJ, Ramey ML, Fowler MC, Killeen A. Plastic vs. glass SST evacuated serum separator blood drawing tubes for endocrinologic analytes. *Clin Chem* 1993 ; 39 : 2535-6.
- (25) Ferry JD, Collins S, Sykes E. Effect of serum volume and time of exposure to gel barrier tubes on results for progesterone by Roche Elecsys 2010. *Clin Chem* 1999 ; 45 : 1574-5.
- (26) Bush VJ, Janu MR, Bathur F, Wells A, Dasgupta A. Comparison of BD Vacutainer™s SST plus tubes with BD SST II™ plus tubes for common analytes. *Clin Chim Acta* 2001 ; 306 : 139-43.
- (27) Zurcher MR, Sulze I, Barizzi G, Lammle B, Alberio L. Stability of coagulations assays performed in plasma from citrated whole blood transported at ambient temperature. *Thromb Haemost* 2008 ; 99 : 416-26.