@Mohamed_Nahli

BIOLOGIE MAROC
www.biologie-maroc.com

Techniques chimiques pour la biologie

SCIENCES DE LA VIE

Shop

• Cahiers de Biologie + Lexique
• Accessoires de Biologie

Etudier

Visiter Biologie Maroc pour étudier et passer des QUIZ et QCM enligne et Télécharger TD, TP et Examens résolus.

Emploi

• CV • Lettres de motivation • Demandes...
• Offres d'emploi
• Offres de stage & PFE

1)**Définir le problème et prévoir une méthode**

-Définir le problème

Quelle est l'information recherchée, **qualitative ou quantitative**, quel en sera l'usage et par qui (**client**), quelle est la **précision** requise, quel est le **budget** alloué, quelle est la **nature** est **comment** obtenir un **échantillon représentatif**, Le client peut être
-un biologiste intéressé par analyser la libération d'une molécule particulière par un organisme (ou une cellule) après stimulation,
- un agent de l'agence de protection de l'environnement qui explore la contamination d'un cours d'eau par les pesticides utilisées dans les fermes des alentours
- un médecin qui recherche un bio marqueur dans le sang d'un patient pour établir un diagnostique
- un agent de l'agence de sécurité alimentaire qui vérifie l'innocuité d'un aliment à mettre sur le marché
-un douanier qui veut rechercher la présence de substances illicites dans une préparation

each of which will have different criteria or needs, and each having their own understanding of what a chemical analysis involves or means.

-Prévoir une méthode

*Quelles sont les caractéristiques de l'échantillon, sa nature (liquide solide gaz), sa taille, sa complexité (présence d'interférents), sa teneur en analyte.
*Sélectionner une méthode en fonction de la nature (les propriétés, les caractéristiques) de l'analyte et de la matrice, de la sensibilité (fonction de la teneur/concentration de l'échantillon en analyte), de la sélectivité (fonction de la présence d'interférents) et la précision requises, des moyens techniques disponibles (instruments, expertise), ainsi que d'autres paramètres comme la rapidité d'exécution, le cout, la possibilité d'automatisation… Tout cela bien sûr dans le respect des normes (de sécurité/innocuité) et régulations éventuelles édictées par les sociétés savantes (les autorités). Exple : Laboratoire National de Contrôle des Médicaments -*ONSSA* - Office National de Sécurité Sanitaire des produits Alimentaires.

2) **Obtenir un échantillon représentatif**

Le biosysteme parent à échantillonner peut être solide liquide ou gazeux. Il peut être de composition **homogène** ou **hétérogène**. Dans le premier cas, un échantillon pris **au hasard** au sein du biosysteme parent devrai suffire pour l'analyse (c'est généralement le cas pour les biosystèmes liquides ou gazeux tels que les fluides biologiques), dans le deuxième cas on pourrait être intéressé par la variation de l'analyte à travers tout le biosysteme, auquel cas plusieurs échantillons sont prélevés dans différentes parties du biosysteme.

En fait, il n'existe pas de traitement général de la théorie de l'échantillonnage, et les techniques d'échantillonnage dépendent de la nature de l'analyte et du demandeur de l'analyse (client, donneur d'ordre).
Ainsi, les méthodes d'échantillonnage des matériaux (biosystèmes) les plus importants sont **édictées et standardisées** par ce qu'on appellera des **« sociétés savantes »**, c'est-à-dire des communautés scientifiques ou autorités(agences nationales) spécialisées dans la santé publique, la protection de l'environnement…Cela n'empêche pas cependant de développer des méthodes « in-house » adaptées a une problématique « locale » particulière.

Dans tous les cas, l'étape d'échantillonnage consiste à décider **où** (dans quelle partie du biosysteme parent) obtenir l'échantillon représentatif de la problématique posée (biopsie, fluide biologique, racine, feuille…) dans quelles **conditions** (in vivo, post mortem, à jeun, après manger, la nuit, conditions climatiques…) **comment** (par quelle méthode et quels instruments) et en quelle **quantité**.

Certaines **précautions** doivent être prises lors de la **manipulation** (prélèvement, transport) et du **stockage** de l'échantillon afin d'éviter ou minimiser la contamination, la perte (volatilisation, adsorption),la décomposition ou l'altération de l'analyte ou de la matrice(oxydation, photo oxydation, action microbienne ou enzymatique). En général ces effets indésirables peuvent provenir des outils utilisés pour le prélèvement (seringues, pinces…), du conteneur utilisé pour le transport et/ou stockage , de l'atmosphère, de l'action de la lumière et de la température..

Dans tous les cas, l'échantillon doit être maintenu :
- à la température la plus basse possible (+4….-196°C) afin d'optimiser sa stabilité physique, chimique et biologique
-dans un conteneur en matériau adéquat (verre, éventuellement ambré, plastique special, inox), taille adaptée et fermeture étanche
-Le moins de temps possible

Pour certains analytes et matrices, on peut également être amené à stabiliser l'échantillon dès que prélevé, par ajout de certains additifs

Nous reviendrons ultérieurement sur ces paramètres de stabilisation de l'échantillon

3) **Préparation de l'échantillon**

Hormis les situations où l'analyte est ciblé **in situ** puis directement soumis à l'analyse instrumentale (**on-line analysis**, **direct injection analysis**) , l'échantillon prélevé et généralement soumis à un prétraitement (préparation) plus ou moins laborieux (en fonction de sa nature) ,avant toute analyse.

a)Préparation préliminaire ou « sommaire » :

L'échantillon doit être « propre », non souillé par du matériel étranger et donc en être débarrassé.
Les échantillons **liquides ou gazeux** peuvent par exemples contenir des matières en suspension, celles-ci sont éliminées par **filtration (**liquide**,**gaz**)**, **décantation** (liquide)ou **centrifugation** (liquide), le but étant de recueillir un fluide **homogène** (une seule phase) limpide et allégé, **acceptable** par les instruments d'analyse.
Les échantillons **solides** sont **lavés et nettoyés** pour, par exemples débarrasser un végétal des poussières déposées a sa surface, des restes de sol adhérentes aux racine ou tubercule…Un échantillon de foie ou de rein peut être débarrassé de l'excès de graisses associées et des vaisseaux sanguin…

b) préparation « avancée »

Le but de l'étape de préparation est l'obtention de l'échantillon sous une forme, généralement liquide, compatible avec (acceptable par) l'analyse instrumentale ;

Les échantillons **solides** nécessitent donc, en premier lieu, d'être **homogénéisés** (désintégrés) et **transformés en échantillons liquides**, cela permet de **libérer l'analyte** de ses ancrages intra tissulaires (intracellulaire) et de le rendre accessible aux manipulations ultérieures (analyse instrumentale ou à l'extraction et la purification).
Une fois l'échantillon liquide obtenu, **d'autres opérations** pré analytiques (de préparation) peuvent êtres entreprises dans le but **d'enrichir l'échantillon** en analyte d'intérêt, tout en réduisant ou en **éliminant les interférences** potentielles par d'autres composants de la matrice.

Les opérations de préparation (de l'échantillon), dépendent de la nature de l'analyte et celle de la matrice ; Les plus courantes sont :

- **La concentration ou la dilution** de l'échantillon afin d'avoir l'analyte à une concentration adéquate pour les manipulations ultérieures, cela se fera par :
  *ajout de solvant pur (dilution)
  *filtration /ultrafiltration (concentration des solutions de macromolécules)
  *Dialyse (pour éliminer les petites molécules et ions)

-**L' extraction de l'analyte** par un **liquide solvant** ou par un **solide adsorbant**.

L'extraction par le solvant *peut être réalisée sur un échantillon solide, de manière concomitante avec le processus d'homogénéisation (**extraction solide/liquide**), ou alors sur l'échantillon liquide obtenu après homogénéisation (**extraction liquide/liquide**) ; on peut aussi avoir une **extraction gaz/liquide**.*

L'extraction par un solide *(extraction en phase solide) est réalisée à partir d'un échantillon liquide (**extraction liquide/solide**) ou gazeux (**extraction gaz/solide**).*

- **Précipitation des protéines** : peut avoir deux objectifs différents,

1) **éliminer les protéines** de la matrice pour alléger l'échantillon et éviter les interférences avec l'analyse (chimique ou instrumentale), c'est souvent le cas lorsque l'analyte d'intérêt est une petite molécule,
2) **isoler les protéines** pour leur manipulation ultérieure, dans ce cas la protéine est l'analyte.

D'autres procédés sont utilisables pour une bonne préparation de l'échantillon, ils dépendent tous de la nature de l'analyte et de la matrice, mais d'autres paramètres peuvent aussi influencer le choix du procédé, notamment la taille de l'échantillon, le cout de l'opération….

Nous nous limiterons aux trois procédés cités precedement

Bon courage

LIENS UTILES ☝

Visiter :

1. https://biologie-maroc.com
   - Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. https://biologie-maroc.com/shop/
   - Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
   - Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
   - Trouver des bourses et des écoles privées

3. https://biologie-maroc.com/emploi/
   - Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
   - Trouver des offres d'emploi et de stage