

# Recommandations et mode opératoire standardisé pour la préparation d'un sérum humain à partir de sang total



## 1. Prérequis

Ce mode opératoire détaille la préparation du sérum, obtenu à partir du sang total après coagulation et centrifugation. Il s'inscrit dans une démarche d'harmonisation des pratiques, en accord avec les conditions pré-analytiques définies par l'état de l'art et les recommandations des fournisseurs. Le tableau ci-dessous présente les tubes de prélèvement adaptés à l'obtention du sérum selon les besoins analytiques.

| Couleur du bouchon                                                                  | Type de tube                                                                   | Principales finalités analytiques                                                                                                                                                                 | Délai pré-analytique                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | Tube activateur de coagulation (CAT) ou tube « sec »                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>Biochimie<sup>1,2</sup></li> <li>Hormonologie<sup>1,2</sup></li> <li>Sérologie<sup>1,2</sup></li> <li>Surveillance médicamenteuse<sup>1,2</sup></li> </ul> | <p>Le délai pré-analytique comprend :</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>le délai entre le prélèvement et la centrifugation (ie. TTC Time-to-centrifugation)</li> <li>le délai entre la centrifugation et la congélation (ie. TTF Time-to-freeze).</li> </ol> <p>Ces 2 intervalles doivent être les plus courts possible et adaptés au besoin de l'étude.</p> |
|  | Tube activateur de coagulation avec gel séparateur (SST) ou tube « sec à gel » | <ul style="list-style-type: none"> <li>Métabolomique<sup>3-5</sup></li> <li>Protéomique<sup>6,7</sup></li> <li>MiRNome (miRNA)<sup>8,9</sup></li> </ul>                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

### Note complémentaire :

Quelle que soit la finalité analytique envisagée, le choix de tube doit bien suivre les directives recommandées dans le manuel de prélèvement de la structure.

Certains fournisseurs proposent des tubes à coagulation rapide (avec microparticules de silice et de la thrombine). Bien se référer aux recommandations pré-analytiques du fournisseur en cas d'utilisation.

La check-list suivante est un rappel aux procédures générales relatives à la collecte, le transport des prélèvements fluides et plus largement aux principes applicables à la gestion des ressources biologiques, qui devront être consultés au préalable.

- ✓ Recommandations et guidelines internationales<sup>10-12</sup>.
- ✓ Exigences éthiques et réglementaires respectées (information, consentement ou non-opposition).
- ✓ Personnel formé, responsabilités définies, système de management de la qualité (SMQ) appliqué selon un cadre normatif dépendant de la structure (e.g. ISO 20387, ISO 9001).
- ✓ Conditions de collecte maîtrisées (facteurs d'influences, techniques/réalisation, type de contenant primaire adéquat et respect de l'ordre de leur prélèvement, volume de remplissage...).
- ✓ Le transport adapté et réglementé (durée, température et modalités).
- ✓ Échantillons identifiés de manière unique avec une chaîne de traçabilité complète.
- ✓ Données associées enregistrées et conservées.
- ✓ Contrôles qualité effectués à toutes les étapes pré-analytiques détaillées ci-après et système de gestion des non-conformités en place.

## 2. Réactifs, Consommables et Équipements

### Consommables et petits matériels

- Pipettes de transfert stériles
- Micropipettes pour la distribution de petits volumes (aliquotage)
- Pointes stériles
- Portoirs
- Gants et autres EPI adaptés
- Cryotubes en polypropylène de type 1D, 2D adaptés à l'usage (e.g. exempt de nucléases, fond conique loBind...)
- Cryoboîtes adaptées à l'usage
- Tube de transfert aux propriétés équivalentes à celles des cryotubes
- Container DASRI

#### Note complémentaire :

*L'utilisation d'étiquettes résistantes à de très basses températures est recommandée lors de l'utilisation de cryotubes non sérigraphiés. Bien respecter les recommandations fournisseurs et adopter une standardisation des champs propres à l'étude (à minima ID échantillon).*

### Équipements

- Centrifugeuse avec un rotor à godets oscillants de préférence.
- Poste de Sécurité Microbiologique (PSM type 2) si l'échantillon comporte un pathogène de classe 2 connu.

### 3. De la préparation à la conservation



**Le délai pré-analytique fait partie des facteurs critiques de qualité du sérum.  
Il doit être le plus court possible.**

*Toute modification de ces conditions hors préconisations (fournisseurs, FrBioNet, bibliographie...) doit relever d'un protocole spécifique validé et adapté à l'usage final.*

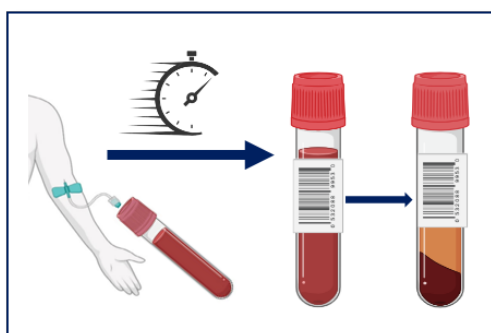
#### Étape 1 – Coagulation

| durée estimée : 30 min minimum (2h max)



##### DATASET

Date et heure de prélèvement



- Laisser le caillot sanguin se former dans le tube primaire placé en position verticale, à température ambiante (de préférence entre 18°C et 25°C).
- Vérifier la prise en masse du caillot au bout de 30 minutes, temps minimal avant centrifugation.<sup>13-16</sup>
- **Après les 30 min de coagulation, le TTC doit être le plus court possible et ne pas dépasser 2 heures.**<sup>17-20</sup>
- Passer à l'étape 2 sans délai.

##### Note complémentaire :

Vérifier le niveau de remplissage. Ne jamais ouvrir le tube primaire et ne jamais transvaser d'un tube primaire à l'autre.

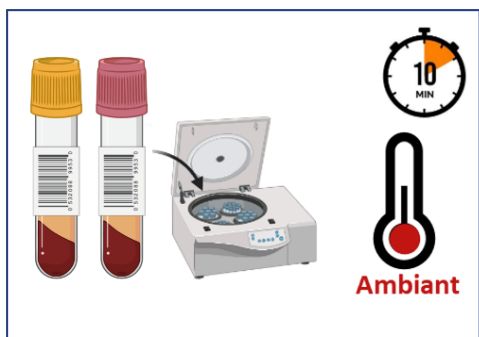
#### Étape 2 – Centrifugation

| durée estimée : 10 min



##### DATASET

Date et heure de début de centrifugation  
Vitesse de centrifugation  
Température centrifugation  
Durée de centrifugation



- La proposition d'harmonisation des conditions de centrifugation est de **2 000 g pendant 10 minutes**, avec frein, à température ambiante.<sup>7,13-16,21</sup>
- Contrôler visuellement la conformité du surnageant obtenu (présence de deux phases et index HIL).
- Passer à l'étape 3 sans délai.

##### Note complémentaire :

Une seconde centrifugation peut être nécessaire pour des analyses relatives aux miRNA dans le sérum. Parmi les principaux fournisseurs, les vitesses de centrifugation suggérées vont de 1300g à 2000g pendant 10 minutes.

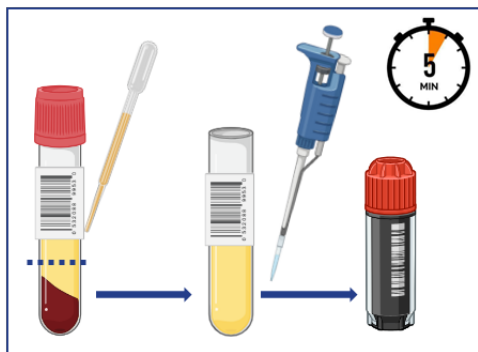
## Étape 3 – Aliquotage

| durée estimée : 5 min



### DATASET

Volume d'aliquot  
Contenant de conservation  
Identifiant unique du tube



- Adapter les volumes d'aliquots à l'usage final (si connu) afin d'éviter toute décongélation répétée. Si la finalité n'est pas connue, nous recommandons de réaliser des aliquots d'un volume compris entre 200µL et 500µL.
- Afin de s'assurer de l'homogénéité des aliquots préparés, il est recommandé de transférer la phase supérieure correspondant au sérum dans un tube secondaire en préservant l'interphase (prévoir une marge de sécurité au-dessus du culot globulaire).
- **Homogénéiser** et distribuer dans les cryotubes code-barrés le sérum.
- Passer à l'étape 4 sans délai.

### Note complémentaire :

Certains fournisseurs recommandent de ne pas centrifuger le tube primaire une deuxième fois<sup>22</sup>. En cas d'utilisation de tube primaire à gel (type SST), bien respecter une marge afin de ne pas contaminer le sérum (impact sur des finalités protéomiques par exemple).

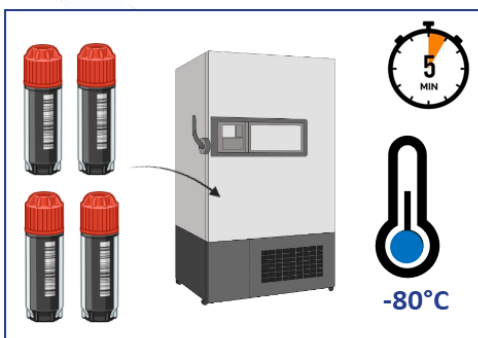
## Étape 4 – Congélation

| durée estimée : 5 min



### DATASET

Date et heure de début de conservation  
Température de conservation  
Emplacement de conservation  
Cycle de décongélation



- **Conservation long terme** : congeler immédiatement à -80°C. Une conservation en azote peut également être envisagée.
- **Conservation court terme** :
  - Une conservation à +4°C peut être envisagée en fonction de l'usage prévu.
  - Une congélation -20°C est tolérée selon la finalité et les directives projet (ex : *déconseillée pour la métabolomique*).

- Éviter tout cycle de congélation/décongélation.



Les cycles de congélation-décongélation et le stockage prolongé entraînent une altération significative de certains biomarqueurs, justifiant leur limitation stricte et le contrôle des conditions de conservation pour chaque projet. Les décongélations doivent être tracées précisément en nombre et en durée.

### Note complémentaire :

**Pour une congélation à long terme, une congélation à -80°C est recommandée.**

Quelle que soit sa température de consigne, l'enceinte de conservation doit systématiquement être suivie et ses performances vérifiées.

#### 4. Non conformités et recommandations en cas d'anomalies

---

Nous vous recommandons de vous référer au thésaurus des non-conformités disponible dans le manuel de laboratoire et de tracer, en complément, les caractéristiques relatives à l'échantillons spécifiques au sérum dans les situations suivantes :

- ✗ Caillot non formé/ coagulation incomplète ;
- ✗ Contamination par aspiration du culot.

#### 5. Contrôles qualité

---

Nous vous recommandons de consulter l'outil en ligne de qualification des échantillons biologiques développé par l'IBBL : <https://www.findmyassay.com>.

La plupart des contrôles indispensables se font de manière visuelle (intégrité des gels, formation du caillot, couleur et aspect du sérum par exemple). Le principal d'entre eux est **l'index HIL** (Hémolyse/Ictère/Lipémie)<sup>23</sup> utilisé comme outil de contrôle qualité pour détecter les interférences analytiques :

- **Hémolyse** : libération de composés intracellulaires, couleur rose à rouge. Légère, modérée à forte en fonction des taux d'hémoglobine.<sup>24</sup>
- **Ictère** : interférence liée à la bilirubine, couleur jaune foncé à brun.
- **Lipémie** : interférence liée aux lipides donnant un aspect trouble et laiteux.

#### 6. Traçabilité et SPREC

---

Les outils suivants doivent être mis en place afin d'assurer la traçabilité complète des échantillons et la gestion des données associées :

- ✓ Feuille de liaison/ feuille de prélèvement (Manuel Laboratoire et sa trame annexe).
- ✓ Système d'information de laboratoire (LIMS).
- ✓ Champs à colliger à minima présentés à chaque étape de préparation ci-dessus.

Nous recommandons l'utilisation du codage SPREC ou [Standard PREanalytical Code](#)<sup>25</sup> pour standardiser et qualifier les conditions pré-analytiques des échantillons en complément du système de traçabilité LIMS. [SPRECalc release note](#) permet de guider l'implémentation de l'outil dont la version 4.0<sup>26</sup> sera bientôt disponible.

Un codage SPREC optimal pour la préparation d'un sérum vous sera prochainement proposé en annexe.

## 7. Remerciements

---

FrBioNet tient à exprimer sa sincère gratitude aux experts suivants pour leur contribution essentielle à la rédaction et à la relecture de ces recommandations :

Mathilde BERTHOME

*CRB CHU de Nantes, experte WP3*

Fay BETSOU

*Institut Pasteur, experte WP3 et leader WP6*

Hélène BLANCHÉ

*Fondation J. Dausset-CEPH, experte WP3*

Céline COGNET

*CRB CHU de Bordeaux, experte WP3*

Laura DEVOS

*Cheffe de projet WP3 FrBioNet*

Stanie GAETE

*CRB Karubiotec, leader WP6*

Yves-Edouard HERPE

*Biobanque de Picardie, leader WP2*

Michael HISBERGUES

*CRB CHU de Lille, leader WP5*

Guillaume LAURANT

*Institut Gustave Roussy, expert WP3*

Gilles LAVERNY

*CNRS UMR 7104 - Inserm U1258*

*Université de Strasbourg-IGBMC*

*Expert WP3*

Simon LEFRANC

*Institut Montsouris, expert WP3*

Hélène LEGROS

*CRB CHU de Caen, leader WP3*

Béatrice PARFAIT

*CRB de Cochin, leader WP3*

Bénédicte RAZAT

*CRB CHU de Toulouse, experte WP3*

Maxime ROBIN

*CRB CHU d'Angers, expert WP3*

Clément ROCHER

*CRB CHU de Bordeaux, expert WP3*

Nathalie ROUSSEAU

*Centre F. Baclesse Caen, experte WP3*

Séverine TABONE-EGLINGER

*Centre L. Bérard Lyon, leader WP2*

## 8. Références

1. Rifai, N *et al.* Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. (2023).
2. Guder, W. G. *et al.* Diagnostic Samples: From the Patient to the Laboratory: The Impact of Preanalytical Variables on the Quality of Laboratory Results, 4th, Updated Edition. (2014).
3. Lamazière, A. *et al.* Pharmaco-metabolomics and metabolomics: A new tool in precision medicine? *Therapies* **81**, 10–18 (2026).
4. Fliniaux, O. *et al.* Influence of common preanalytical variations on the metabolic profile of serum samples in biobanks. *J Biomol NMR* **51**, 457–465 (2011).
5. Castelli, F. A. *et al.* Metabolomics for personalized medicine: the input of analytical chemistry from biomarker discovery to point-of-care tests. *Anal Bioanal Chem* **414**, 759–789 (2022).
6. Ostroff, R. *et al.* The stability of the circulating human proteome to variations in sample collection and handling procedures measured with an aptamer-based proteomics array. *Journal of Proteomics* **73**, 649–666 (2010).
7. Lehmann, S. *et al.* Recommandations préanalytiques pour les analyses de protéomique clinique des fluides biologiques. *Annales de biologie clinique* **67**, 629–639 (2009).
8. Wakabayashi, I. *et al.* Differences in serum and plasma levels of microRNAs and their time-course changes after blood collection. *Practical Laboratory Medicine* **39**, e00376 (2024).
9. Katayama, E. S. *et al.* Stability of microRNAs in serum and plasma reveal promise as a circulating biomarker. *Non-coding RNA Research* **15**, 132–141 (2025).
10. ISBER. Best practices: Recommendations for repositories 5th edition. (2023).
11. European Platform for Neurodegenerative Diseases. Best Practices for Biobanking. (2023).
12. Clinical and Laboratory Standard Institute. Handling, Transport, Processing, and Storage of Blood Specimens for Routine Laboratory Examinations. (2023).
13. Greiner Bio-One. VACUETTE® - Système de prélèvement sanguin évacué - Fiche technique. (2022)
14. Greiner Bio-One. Handling and Centrifugation Recommendations. [https://www.gbo.com/fileadmin/imported\\_from\\_old/1112014R2\\_Centrifuge\\_Insert\\_Instructions\\_FINALApproved.pdf](https://www.gbo.com/fileadmin/imported_from_old/1112014R2_Centrifuge_Insert_Instructions_FINALApproved.pdf).
15. SARSTEDT. Product Information S-Monovette® Serum and Serum-gel.
16. BD Life Sciences. Fiche Technique BD Life Sciences – Integrated Diagnostic Solutions Tubes BD Vacutainer® SST II Advance en PET avec bouchon sécurité BD Hemogard. (2021).
17. Bernini, P. *et al.* Standard operating procedures for pre-analytical handling of blood and urine for metabolomic studies and biobanks. *J Biomol NMR* **49**, 231–243 (2011).
18. Hubel, A. *et al.* State of the Art in Preservation of Fluid Biospecimens. *Biopreservation and Biobanking* **9**, 237–244 (2011).
19. International Agency for Research on Cancer *et al.* Common Minimum Technical Standards and Protocols for Biobanks Dedicated to Cancer Research. (2017).
20. National Cancer Institute. NCI Best Practices for Biospecimen Resources. (2016).
21. Ammerlaan, W. *et al.* Method Validation for Preparing Serum and Plasma Samples from Human Blood for Downstream Proteomic, Metabolomic, and Circulating Nucleic Acid-Based Applications. *Biopreservation and Biobanking* **12**, 269–280 (2014).
22. BD Life Sciences. Synthèse pour une Standardisation des Conditions de Centrifugation. (2016).
23. Centre Suisse de Contrôle Qualité (CSCQ). Fiche technique : Hémolyse, lipémie, ictère. (2021).
24. Lippi, G. *et al.* Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* **46**, 764–772 (2008).
25. Betsou, F. *et al.* Standard Preanalytical Coding for Biospecimens: Defining the Sample PREanalytical Code. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* **19**, 1004–1011 (2010).
26. Betsou, F. *et al.* Standard PREanalytical Code Version 4.0. **23**, 328–332 (2025).

Les schémas présentés dans ce document ont été réalisés à l'aide de BioRender.com.

Pour toute suggestion ou remarque relative à ce document, contactez-nous directement par mail à l'adresse [contact@frbionet.fr](mailto:contact@frbionet.fr).



### Conditions d'utilisation

Ce document a été développé dans le contexte de FrBioNet, consortium financé par l'ANR et l'Agence de l'innovation en santé via le projet France Innovation Santé 2030. FrBioNet ambitionne d'augmenter la compétitivité de la recherche académique et industrielle française à l'international en s'appuyant sur la mise en valeur des collections biologiques existantes ou à venir.

Ce document est mis à disposition selon les termes de la licence Creative Commons Attribution CC BY-NC-SA. Vous êtes autorisé à le copier, le diffuser et l'adapter, à condition de citer l'auteur, de ne pas en faire un usage commercial et de diffuser toute œuvre dérivée sous la même licence. Pour plus d'informations, consultez les conditions complètes de la licence CC BY-NC-SA.

[www.frbionet.fr](http://www.frbionet.fr)