

I. identification, transport et conservation des échantillons

1. identification

Les échantillons prélevés doivent être clairement identifiés. Chaque flacon doit porter une étiquette indiquant :

- site du prélèvement ;
- lieu et la nature ;
- mode de prélèvement (ponctuel ou moyen 24 heures, proportionnel au débit ou au temps) ;
- date et heure (du début de prélèvement) et durée ;
- des informations sur une éventuelle technique de conservation de l'échantillon.

2. transport et conservation des échantillons en vue de leurs analyses

Dans le cas général, les échantillons prélevés doivent impérativement être conservés au froid (+ 2 à + 5 °C) et à l'abri de la lumière, y compris pendant leur transport vers le lieu d'analyse.

3. Les techniques de conservation

3.1. Les techniques de conservation par le froid

a. Réfrigération

Tout d'abord, la technique la plus simple et répandue, la réfrigération. Cette utilisation du froid s'effectue traditionnellement grâce à un frigo ou une chambre froide positive. La réfrigération a pour but de conserver des échantillons à une température inférieure à la température ambiante. En conséquence, la conservation des échantillons ne dépasse pas les quelques jours. La conservation par réfrigération a donc pour but de conserver à court terme.

b. Congélation

Celle-ci a pour but de conserver les échantillon sur de longues durées, il faut atteindre une température moyenne de -18 °C afin de conserver des aliments dans de bonnes conditions.

c. Surgélation

C'est un technique permettant de surgeler des échantillons et produits en quelques minutes, jusqu'à 1h. Exposé à un froid plus intense (-35 °C à -45 °C), la formation de cristaux de glace est donc plus limitée que pour la congélation. Cela permet donc d'obtenir des produits mieux conservés et de meilleure qualité.

Les différentes techniques de surgélation sont :

- **Par contact** : les échantillons (de faibles épaisseurs) sont disposés entre deux plaques où circule un fluide froid de -35°C .
- **Par immersion** : avec l'aide d'azote liquide, les produits aux formes irrégulières sont surgelés par immersion.
- **Par l'air** : les échantillons sont exposés à un courant d'air froid (jusqu'à -35°C).

d. La méthode La cryoconservation

La cryoconservation est une méthode de conservation permise par le froid. Son but est de figer toutes réactions biologiques et biochimiques susceptibles de modifier la structure ou la composition d'un échantillon (réaction enzymatique etc).

- **La congélation lente**

La congélation lente représente la descente progressive de température. Elle possède un risque de formation de cristaux élevé et nécessite une concentration en cryoprotecteurs moins importante que la méthode de congélation rapide. Le temps de contact avec ceux-ci est toutefois plus long.

Les échantillons sont mis dans un système dit fermé ce qui empêche l'interaction de l'azote liquide avec les ressources. Cette méthode se divise en trois phases : la phase de refroidissement qui permet une descente de 1 à $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$, la phase d'induction de la cristallisation ou «seeding» et la phase de descente en température contrôlée où la descente en température est de 0.1 à $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$. L'échantillon est ensuite stocké en azote liquide à -196°C jusqu'à son utilisation.

- **La congélation rapide ou vitrification**

La vitrification ou congélation rapide est caractérisée par une chute extrêmement rapide de la température. La vitesse de descente de la température diffère selon le type de système utilisé. L'utilisation d'un système ouvert où l'azote est en contact avec l'échantillon a une vitesse de descente de $-20000^{\circ}\text{C}/\text{min}$, tandis que l'utilisation d'un système fermé à une vitesse de descente de $-2500^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Cette méthode de congélation ne présente pas ou peu de risques quant à la formation de cristaux mais un problème de dénaturation des protéines est possible. Contrairement à la congélation lente, la congélation rapide nécessite l'utilisation d'une concentration en cryoprotecteurs très élevée mais le contact avec les cellules en phase liquide se fait sur un temps plus court.

3.2. Les techniques de conservations par chaleur

A. La stérilisation

Elle consiste à amener une préparation (le plus souvent en bocaux) à plus de 100°C. Une température de 120°C pendant 20 mn permet de détruire la plupart des bactéries. De plus, les échantillons se conservent ainsi pendant environ 5 ans.

B. La pasteurisation

La pasteurisation a pour but la destruction des micro-organismes pathogènes. La technique utilisée consiste à soumettre les échantillons à une haute température mais qui reste toutefois légèrement inférieure à 100°C. Puis de les refroidir brutalement.

C. La déshydratation

C'est une technique qui base sur la séché au soleil des échantillons. Aujourd'hui, on déshydrate avec des déshydrateurs ou des rampes infrarouges par exemple. La finalité étant d'ôter une quantité suffisante d'eau du produit pour pouvoir bloquer le développement de micro-organismes. Elles peuvent donc se conserver à température ambiante. Et cela en particulier quand on les conditionne dans des emballages qui les protègent de l'humidité.

3.3. Les autres méthodes de conservation

A. La conservation sous-vide

On réduit la quantité d'air autour d'échantillon en l'aspirant. Ce principe permet donc de réduire l'action de l'oxygène. On la couple avec la déshydratation ou la congélation.