

Du terrain au labo, où le cheminement d'un échantillon

Un correspondant ne saurait partir sur le terrain sans avoir dans son sac à dos le minimum nécessaire à une éventuelle récolte d'échantillon : quelques sacs de congélation, gants jetables et stylo. De sa récolte et avant d'être analysé au laboratoire, tout type d'échantillon, qu'il soit excrément, urine, sang, poils, ou tissu, va suivre plusieurs étapes qui par la rigueur de leur réalisation vont conditionner pour partie la qualité du typage génétique futur.

Que ce soit la pollution génétique, la chaîne du froid, la méthode de conditionnement ou le matériel utilisé, toutes ces étapes sont à réaliser avec le plus grand soin pour ne pas compromettre une qualité d'ADN déjà limitante par nature.

la récolte sur le terrain

Quel que soit le type d'échantillon à prélever, différentes précautions d'ordre sanitaire doivent être respectées afin d'éviter toute contamination extérieure :

les manipulations se font avec des gants à usage unique,

l'échantillon est conditionné dans un sac de congélation type ziploc (plus pratique et hermétique). Tout autre contenant est à proscrire (du sac de grandes surfaces à la boîte de conserve et autre papier hygiénique...liste non exhaustive...)

Il est important d'éviter de respirer les émanations des excréments

Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement d'urine, on s'attachera à recueillir la partie la plus foncée (concentration marquée)

Pour les poils, il faut veiller à ce que la plupart soient entiers avec leurs bulbes (petite forme lancéolée à la base du poil) puisque c'est à partir de ces derniers que sont réalisés les tests génétiques.

A chaque échantillon... sa fiche (à l'extérieur du sac) ! C'est l'identification standardisée du prélèvement qui va permettre le lien avec la base de données et le suivi de l'échantillon par l'attribution d'un numéro de référence. Sur le sac au stylo à marquage permanent on note :

- le nom du correspondant,
- la date de la récolte,
- le nom de la commune où il est prélevé et le numéro de département.

Si plusieurs échantillons sont prélevés, un numéro d'ordre est ajouté. Il arrive encore que des sacs d'échantillons parviennent sans identification, leur destination finale sera bien souvent, après tentative d'identification ...la poubelle.

La chaîne du froid

L'ADN recherché dans les excréments est déjà naturellement en faible quantité (cellules de l'épithélium arraché lors de l'expulsion) et a déjà subi plusieurs cycles jour/nuit dans la nature avant sa récolte. Ne pas surajouter de contrainte est primordiale en respectant la chaîne du froid . Le dépôt au congélateur (y compris lors du transport qui doit être réfrigéré) doit permettre d'éviter surtout les phases de congélation-décongélation, qui dégradent l'ADN.

Le référencement

Une à deux fois par an, la tournée des congélateurs est réalisée dans chaque région par l'animateur régional pour centraliser tous les échantillons et leur attribuer un code unique. Chaque excrément, poil, urine, tissu... est donc trié, vérifié quant à sa fiche, pour se voir affecter d'un numéro de référence qui va le suivre tout au long du processus jusqu'à la réception du résultat génétique.



Photo : J. Boyer

D'un point de vue sanitaire et afin d'éviter toute pollution génétique, la collecte d'un excrément doit être rigoureuse.



Photo : A. L. Plisson

C'est sans tarder que l'on identifie un échantillon.

Vient ensuite le transfert dans le point laboratoire du Rivier d'Allemont (38). Tous les échantillons y sont centralisés pour un conditionnement standardisé, afin de stabiliser l'ADN, réaliser des doubles, et offrir les meilleures garanties aux généticiens.

Les poils ne nécessitent pas de conditionnement particulier et seront extraits directement au laboratoire de génétique. Le conditionnement en piluliers vise en premier lieu à stabiliser l'ADN contenu dans les excréments et tissus via une solution d'Ethanol de fort degré. Dans des conditions sanitaires très strictes, l'opérateur manipule l'excrément avec blouse, masque et gants à usage unique sur une paillasse désinfectée à chaque échantillon et apprêtée pour éviter toute pollution entre échantillon. Trois prélèvements d'à peu près 1 cm³ sont réalisés et conservés. Un seul prélèvement partira au laboratoire ; les deux autres sont stockés dans la banque de données. Cette opération, quelque peu fastidieuse mais essentielle, nécessite à peu près une journée pour traiter 50 échantillons par opérateur. L'essentiel de ce travail est réalisé par les responsables de réseau, assistés parfois de personnes extérieures.

Le traitement des échantillons de sang et d'urine est en revanche un peu plus complexe. Le sang est traité soit direc-

tement congelé (goutte de sang récoltée dans la neige par exemple), soit précipité dans une solution EDTA qui va fixer les globules contenant l'ADN (cas d'un cadavre frais par exemple). De même, l'urine nécessite une procédure particulière par précipitation de l'ADN dans une solution chimique. C'est pourquoi, par préférence, on réalise des sessions génétiques « spécial urine » pour rassembler une grande quantité d'échantillons et effectuer un conditionnement standardisé.

Une fois ces opérations réalisées, l'échantillon va pouvoir faire l'objet de la première phase d'analyse génétique proprement dite « l'extraction » par le Laboratoire d'Ecologie Alpine. Les sessions sont programmées tous les deux mois. Les correspondants qui souhaitent participer à ce processus peuvent se faire connaître auprès de l'animateur régional du réseau.

Yannick LEONARD, Jérôme BOYER et Perrine MORIS



La préparation d'un excrément avant envoi pour analyse génétique