

UNE JOURNÉE EN IMMERSION DANS UN LABORATOIRE COVID-19

Une journée en immersion dans un laboratoire Covid-19

Fin mars 2020, alors que la première vague de l'épidémie de Covid-19 s'abattait sur notre pays, le ministère des Solidarités et de la Santé a acté l'implantation dans plusieurs métropoles françaises de plates-formes de biologie moléculaire dédiées à la détection du virus SARS-CoV-2 par *polymerase chain reaction* (PCR), ou [réaction de polymérisation en chaîne](#).

[Élodie Alessandri-Gradt](#), [Anaïs Soares](#) et [Marie Gueudin](#), nous ouvrent les portes de celle qui a été mise en place au Centre Hospitalier Universitaire de Rouen.

En un mois, un laboratoire a vu le jour, afin de prendre en charge des milliers de tests PCR à la fin du premier confinement.

Voici comment s'y déroule une journée type :

6h : top départ

La première équipe arrive, composée de six techniciens et deux agents administratifs. Les prélèvements à analyser sont amenés au laboratoire dans un emballage hermétique qui permet un transport sécurisé, même en cas de fuite inopinée. Ce sont des tubes en plastique qui renferment une solution de transport dans laquelle est immergé un écouvillon. Celui-ci sert à collecter, au niveau du naso-pharynx du patient, un échantillon de cellules respiratoires susceptibles d'héberger le virus du SARS-CoV-2. Le génome de ce dernier étant très fragile, la solution de transport en prévient les dégradations pendant plusieurs heures. À partir de là, les prélèvements suivent un circuit précis avant que le résultat ne soit rendu au patient.

À lire aussi : Covid-19 : comment fonctionnent les tests et quelles sont leurs utilités ?

L'étape initiale, dite « préanalytique », consiste à vérifier la conformité de l'échantillon et fiabiliser le résultat. Il est notamment impératif de s'assurer que le prélèvement ait été recueilli dans un contenant dont le milieu de transport est conforme à la réalisation de la PCR SARS-CoV-2, que les délais de son acheminement soient acceptables pour en éviter une dégradation trop importante, ou encore que les informations obligatoires sur l'échantillon et l'identité du patient soient renseignées. Une fois validé, le prélèvement est enregistré dans le système informatique du laboratoire pour assurer sa traçabilité.

7h : début des analyses

Le prélèvement passe dans la première pièce technique. Son emballage est ouvert sous un poste de sécurité microbiologique qui assure la protection du manipulateur. La surface externe du tube est alors aspergée de solution décontaminante pendant cinq minutes, toujours pour garantir la sécurité du manipulateur lors des étapes suivantes. Puis l'échantillon est chauffé à 56 °C pendant 30 minutes pour inactiver le virus qu'il contient potentiellement. À la sortie de la pièce, il ne présente plus aucun risque infectieux pour les manipulateurs.

8h : les robots entrent en action

La plaque est alors placée dans un deuxième robot qui sépare l'ARN viral des autres composants de l'échantillon. Le SARS-CoV2 étant un virus à ARN, une étape de conversion de l'ARN en ADN, dite de rétro-transcription (RT), est réalisée par une enzyme en amont de la PCR.

On parle donc plus précisément de « RT-PCR » pour désigner l'ensemble du processus.

Changement de pièce. Les tubes sont insérés par séries de 93 dans un robot-pipeteur, qui transfère les échantillons sur une plaque de test percée de 96 micro-puits. Les trois puits vides reçoivent des échantillons de contrôle permettant le suivi de l'ensemble du processus d'analyse.

Les plaques utilisées pour la PCR contiennent 96 puits.

(ndlr : les ARN - pour Acide RiboNucléique - sont des molécules dont la structure chimique est proche de celle des molécules d'ADN - Acide DésoxyriboNucléique. Constituée d'un seul brin, la molécule d'ARN est plus fragile que celle d'ADN).

Un mélange réactionnel (mix) nécessaire à la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est ajouté. La PCR correspond à l'amplification d'un fragment de gène cible par le biais d'enzymes sensibles à la chaleur.

Concrètement, de courtes séquences de nucléotides, les « briques » élémentaires constituant le génome viral, s'amarrent au gène cible par complémentarité. Ces « amorces » sont ensuite complétées par l'ajout (polymérisation) de nucléotides libres grâce à une enzyme, la Taq polymerase.

Le robot extracteur-répartiteur peut prendre en charge deux plaques test à la fois, soit 192 réactions indépendantes en 80 min. Au plus fort de l'activité, il fonctionne sans interruption.

Représentation schématique de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) qui permet d'amplifier la quantité de matériel génétique présente dans un échantillon. Ygonaar / Wikimedia Commons

10h : dernière étape analytique

La plaque est transférée dans la dernière pièce technique, celle des thermocycleurs. Ces appareils alternent des cycles de différentes températures permettant aux enzymes de réaliser la PCR en 2h15 et de détecter un signal fluorescent en temps réel. Celui-ci est d'autant plus intense que l'ARN viral est amplifié.

Trois cibles sont recherchées spécifiquement dont deux dans le génome viral. La troisième est présente dans un réactif ajouté à chaque échantillon. Amplifiée même si l'échantillon est négatif, elle sert à vérifier que la PCR a fonctionné correctement, pour s'assurer qu'un résultat négatif n'est pas dû à un problème au cours de la réaction.

L'apparition de la fluorescence après un certain nombre de cycles, selon une courbe exponentielle, signe la positivité de l'échantillon.

On parle de Ct de l'échantillon (*cycle threshold* ou cycle seuil) : un échantillon très chargé en ARN viral nécessitera peu de cycles de PCR pour détecter un signal de positivité (il aura un nombre de Ct faible). À l'inverse, un échantillon avec une faible quantité d'ARN viral induira un Ct élevé.

Courbe d'amplification d'une réaction de PCR.

12h : interprétation et rendu du résultat

C'est la fin de l'analyse. Les techniciens vérifient que les critères de validation technique sont respectés avant de déposer les résultats sur le serveur informatique du laboratoire.

Un biologiste intervient alors pour interpréter l'ensemble des résultats et valider l'interprétation finale, puis le patient pourra consulter son résultat sur un serveur sécurisé. Soit les deux cibles virales sont amplifiées, auquel cas il y a présence d'ARN de SARS-CoV-2, soit seule la cible non virale est amplifiée, et l'on peut conclure à l'absence de détection d'ARN viral.

Certains résultats amènent parfois le biologiste à effectuer des contrôles, l'amplification d'une seule des deux cibles virales, par exemple, la détection d'un signal très faible ou encore l'échec d'amplification de la cible non virale. L'échantillon concerné subit alors un nouveau cycle d'analyses. Malheureusement, il est parfois nécessaire de réaliser un nouveau prélèvement pour obtenir un résultat définitif.

Le biologiste est aussi en charge de communiquer avec les médecins et les patients pour obtenir des informations cliniques complémentaires permettant de mieux cerner certains dossiers et discuter de la complexité des résultats. Il est soumis à tout moment au secret professionnel quant aux résultats du test.

12-14h : c'est la pause !

Mais pas pour l'analyse. Il faut maintenir un flux constant des échantillons sur les différents postes techniques pendant que le personnel déjeune à tour de rôle.

Chacun a la responsabilité de veiller au respect strict des [consignes d'hygiène](#), le moment du repas étant un événement critique en termes de risque de contamination.

***De nombreux échantillons attendent d'être analysés.
Laurie Boquier / CHU de Rouen, Author provided***

14h-15h : rotation des équipes techniques

C'est la fin de la journée pour la première équipe, qui passe le relais et transmet les informations importantes du jour à la seconde équipe. C'est aussi le moment privilégié pour discuter avec toute l'équipe de nouvelles consignes et des éventuelles difficultés rencontrées.

16h : dans les coulisses

L'habilitation des 24 techniciens du laboratoire est assurée par deux ingénieurs, au cours d'une formation spécialisée. Ces ingénieurs ont également pour mission de résoudre tous les problèmes techniques qui ne manquent pas de survenir, tels que les réglages permanents des robots, à ajuster au gré des pénuries de consommables qui obligent à s'adapter aux références disponibles. Ils s'assurent enfin, avec l'aide d'un logisticien, que les stocks du laboratoire sont suffisants pour éviter une telle rupture sur un consommable critique.

Un cadre de santé assure la gestion des ressources humaines pour le personnel non médical : embauches et élaboration du planning en correspondance avec l'activité fluctuante du laboratoire, évaluation des compétences acquises, respect de la réglementation (nombre d'heures de repos obligatoires, nombre de dimanches travaillés...).

Biologiste et virologue, le responsable de la plate-forme assure le lien entre les différents personnels du laboratoire, ainsi qu'avec les établissements partenaires. Il forme l'équipe de biologistes, prend des décisions sur les éventuels problèmes critiques et essaie d'anticiper les flux extrêmement variables de prélèvements.

- **Déroulement d'une journée dans un laboratoire Covid**

[Déroulement d'une journée dans un laboratoire Covid](#)

17-22h : en flux continu

À cette heure, de nombreux prélèvements affluent à la plate-forme. L'équipe reste donc pleinement mobilisée pour assurer leur prise en charge dans les meilleurs délais. Pour certains, l'éloignement du site de prélèvement (parfois plus de 100 kilomètres) peut impacter le délai de rendu du résultat.

Les séries d'analyse de PCR se succèdent en flux continu pendant la soirée. Certaines étapes automatisées se poursuivront même tout au long de la nuit.

La cadence d'analyse maximale est 186 résultats toutes les deux heures, soit jusqu'à 1 800 résultats par jour, ce qui implique un fonctionnement optimal à chaque étape de prise en charge.

Plus de 173 000 prélèvements ont ainsi été analysés par la plate-forme COVID du CHU de Rouen depuis mai 2020.

Statistiques des analyses du laboratoire Covid du CHU de Rouen.

La PCR reste la référence du diagnostic COVID

L'implantation et le fonctionnement de laboratoire COVID sur le territoire français représente un défi inédit pour l'ensemble des équipes concernées. De la réalisation du prélèvement au rendu du résultat de l'analyse de la PCR, la fiabilité du diagnostic repose sur la précision des étapes successives de traitement de l'échantillon. La logistique nécessaire à l'analyse de PCR reste complexe malgré son automatisation. Cependant, malgré l'arrivée des tests antigéniques sur le marché ayant étoffé l'offre de détection du virus, cette analyse demeure à ce jour le test diagnostique de référence pour l'infection par le SARS-CoV-2.

Auteurs

- **[Élodie Alessandri-Gradt](#)**, MCU-PH en virologie, CHU de Rouen, [Université de Rouen Normandie](#),
- **[Anaïs Soares](#)**, [Université de Rouen Normandie](#)
- **[Marie Gueudin](#)**, [Université de Rouen Normandie](#)

Cet article est republié à partir de [The Conversation](#) sous licence Creative Commons. Lire l'[article original](#).

Publié le : 2021-03-02 11:15:01