



Fiche : Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect de COVID-19

Recommandations de la SFM à destination des laboratoires des Etablissements de Santé de Référence (ESR) et des Hôpitaux militaires, février 2020.

Rédacteurs (Groupe de travail SFM « Micro-organismes émergents ») :

Maude Bouscambert, Nadine Lemaitre, Audrey Merens, Bruno Lina, Gérard Lina, sous l'impulsion de la Direction Générale de la Santé (DGS).

Généralités

Le SARS-CoV-2 (nouvelle dénomination du nCoV-2019) est un virus de la famille des coronavirus (coronavirus humains agents du rhume banal / NL63, HUK1.... ; SARS-CoV en 2003 ; MERS-CoV 2012). La transmission est de type gouttelette comme la grippe (maximum de contagiosité à ≤ 1 m). Sa durée de survie sur surfaces inertes est inconnue mais, le MERS-CoV, virus apparenté, peut survivre pendant 5 jours en particulier en atmosphère humide (taux d'humidité $\geq 50\%$) et à faible température.

Les premières données (en cours de publication) sur le suivi des premiers patients COVID-19 hospitalisés en France rapportent une virémie inconstante, très faible et de courte durée, exclusivement décrite actuellement dans les formes sévères (SDRA). La virurie reste inexistante. En revanche, la quantité de virus excrété dans les selles peut être élevée comme cela a été observé avec le MERS-CoV. Des cas de contamination du personnel soignant ont été décrits mais aucun cas de contamination du personnel de laboratoire n'a été rapporté. Les précautions standard de manipulation des agents infectieux au laboratoire sont suffisantes. Les coronavirus sont sensibles aux désinfectants usuels virucides tels que l'hypochlorite de sodium 0,5%, l'acide peracétique/peroxyde d'hydrogène, l'éthanol ou l'isopropanol à 70%, glutaraldéhyde...selon la norme EN 14476 s'ils sont utilisés suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration et du temps de contact).

Ces éléments permettent d'évaluer le risque associé à la manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir du SARS-CoV2 (prélèvements respiratoires et selles) pour le diagnostic d'infection COVID-19 d'une part mais éventuellement pour un diagnostic complémentaire ou différentiel (panel diagnostiques, paramètres d'urgence) sans perte de chances pour le patient.

Selon les recommandations de l'OMS, CDC et ECDC, la manipulation des échantillons microbiologiques d'un patient suspect de COVID-19 peut s'effectuer



dans un LSB2 (laboratoire de sécurité biologique de niveau 2) en respectant les bonnes pratiques de travail, particulièrement lors des manipulations pouvant générer accidentellement des aérosols, en mettant à disposition une conduite à tenir en cas d'incident (traçabilité du personnel et des échantillons). Seule la culture du virus doit se faire impérativement dans un LSB3.

La Société Française de Microbiologie (SFM) est en accord avec ce principe.

Diagnostic et prélèvements

En France, le diagnostic spécifique de COVID-19 est réalisé actuellement par une RT-PCR spécifique sur un écouvillonnage nasopharyngé dont le résultat peut être obtenu généralement en 4 heures. Aucun test commercial n'est actuellement disponible.

Les prélèvements à réaliser pour le diagnostic initial COVID-19 sont les suivants :

- un prélèvement systematique des voies respiratoires hautes (naso-pharyngé /écouvillons Virocult® ou aspirations) ;
- un prélèvement des voies respiratoires basses (crachats, LBA, ATB) en cas d'atteinte parenchymateuse.

Pour plus d'informations ainsi que pour les prélèvements de suivi d'un patient positif se référer aux recommandations des CNR.

Les prélèvements destinés à la recherche d'autres agents microbiologiques autres que le SARS-CoV-2 ne doivent pas être envoyés aux laboratoires destinataires avant la levée de doute sur une infection COVID-19. Ils doivent être conservés dans le service à +4°C si possible.

Acheminement des prélèvements

Le service clinique prévient immédiatement le laboratoire de la suspicion d'infection COVID-19. Les prélèvements biologiques destinés au laboratoire doivent être limités au strict nécessaire (diagnostic d'infection COVID-19 et analyses urgentes liés aux soins du malade).

1. Prélèvements pour le diagnostic microbiologique

- Les prélèvements respiratoires cités ci-dessus sont adressés au laboratoire obligatoirement par un transporteur dédié ou un soignant à pied en utilisant un conditionnement de catégorie B (Norme UN 3373)/triple emballage (tube – contenant rigide à visser – BIOTAINER rigide UN 3373). Ne pas utiliser de pneumatique.



Pour rappel : l'extérieur des tubes sont désinfectés avant l'envoi selon les procédures en vigueur dans le service. La partie la plus externe du colis ne pénètre jamais dans la chambre du patient afin de garantir la sécurité du personnel en aval.

- Le triple emballage contenant tous les prélèvements à visée diagnostic destiné à la microbiologie ne sera ouvert qu'en laboratoire de sécurité microbiologique de niveau 2, sous PSM2 (poste de sécurité biologique de niveau 2).

2. Autres prélèvements

- Les échantillons de sang destinés à l'hématologie, hémostase, biochimie..., sont mis dans un emballage classique après désinfection des tubes.
- Acheminement par voie pedestre en même temps que les prélèvements destinés au diagnostic microbiologique. Ne pas utiliser de pneumatique.
- A l'arrivée au laboratoire ou au centre de tri, les prélèvements sont déballés, enregistrés, numérotés. Il n'est pas utile de les re-décontaminer (risque de retard de prise en charge et donc perte de chance pour le patient).
- Etant donné la virémie inconstante et très faible, les tubes de sang destinés à la biochimie, hémostase, gaz du sang sont donc traités selon les procédures locales de manipulation d'échantillons potentiellement contaminés par des agents infectieux.

Réalisation des analyses microbiologiques

Il est recommandé, d'organiser la prise en charge des échantillons sous un PSM2 dédié le temps de cette prise en charge, en dehors de toute manipulation des échantillons de la routine du laboratoire.

- Manipulation des échantillons respiratoires : dans le laboratoire LSB2, sous PSM2, quelles que soient les activités réalisées (mise en tampon de lyse pour l'extraction des acides nucléiques, ensemencement à visée bactériologiques, cytologie des liquides type LBA...).
- D'autres prélèvements à visée microbiologique (urines, hémocultures, coproculture) pourront être prescrits au décours de l'hospitalisation, uniquement en cas de nouveaux points d'appel cliniques infectieux. La mise en culture de ces prélèvements à visée bactériologique ou mycologique, les dépôts sur lame et la fixation des lames en vue d'un examen microscopique s'effectueront en LSB2 sous PSM2 (une fois fixées, les lames peuvent être



colorées en dehors du PSM2). Les conditions de sécurité biologique sous PSM2 sont listées ci-dessous :

- Personnel en nombre limité dans la pièce du LSB2.
- Tenue recommandée : port de gants manchettes ou sur-blouse pour protéger sa blouse des projections éventuelles sous le PSM2, port d'une 2^{ème} paires de gants pour pouvoir en changer si projection.
- Toute centrifugation doit se faire en nacelle étanche et toute ouverture de nacelle de centrifugation doit se faire sous PSM2.
- Tout vortexage doit se faire sous PSM2.
- Le poste de sécurité microbiologique doit être nettoyé immédiatement après usage avec un détergent-désinfectant virucide (Norme EN 14476) en suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration et du temps de contact).
- Disposer d'une procédure décrivant la conduite à tenir en cas de déversement de liquides biologiques ou de projections sous le PSM2.
- A l'issue des manipulations, retirer la surblouse ou les manchettes et les gants.
- Procéder à une hygiène des mains avec PHA (produit hydro-alcoolique).
- A l'issue de leur prise en charge, l'ensemble des tubes primaires ou secondaires doivent être regroupés pour être conservés +4°C dans un espace dédié et identifié.
- Les prélèvements positifs sont adressés au CNR des virus respiratoires (adresses ci-dessous) en respectant les procédures d'acheminement des prélèvements décrites ci-dessus (conditionnement de catégorie B UN 3373).

Gestion des déchets

Les déchets générés par la prise en charge des prélèvements respiratoires et de selles positifs sous ce PMS2 dédié seront éliminés après un autoclavage (30 min à 121°C) avant de rejoindre le circuit classique des DASRI.

Les échantillons respiratoires et selles négatifs et les autres types d'échantillons peuvent rejoindre le circuit classique de conservation des échantillons du laboratoire puis d'évacuation du laboratoire par la filière DASRI.



Adresse des Centres Nationaux de références des virus respiratoires :

France SUD

Centre National de Référence virus des infections respiratoires (dont la grippe)
Institut des Agents Infectieux
Hôpital de la Croix Rousse, Bâtiment O / Centre de Biologie et de Pathologie Nord
103, Grande-Rue de la Croix-Rousse 69004 Lyon
Secrétariat IAI : +33(0)4 72 07 11 11

France NORD

Centre National de Référence virus des infections respiratoires (dont la grippe)
Institut Pasteur 25-28 rue du Docteur Roux 75724 Paris Cedex 15 France
Secrétariat du CNR : +33(0)1 45 68 87 25

Références

- Dépistage en laboratoire des cas suspects d'infection humaine par le nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV). Lignes directrices provisoires du 17 Janvier 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.3
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th Edition, CDC.
- Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons under investigation (PUIs) for 2019 novel coronavirus (2019-CoV), CDC 2019. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html
- Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection. Interim guidance Updated October 2019, WHO/MERS/IPC/15.1 Rev 1
- Laboratory testing for middle East respiratory syndrome coronavirus, Interim guidance (revised), January 2018. WHO/MERS/LAB/15.1/Rev1/2018
- Manuel de sécurité biologique en laboratoire, 3^{ème} édition. www.emro.who.int/fr/health-topics/biosafety
- Guide pratique sur l'application du règlement relatif au transport des matières infectieuses (2015-2016), WHO/HSE/GCR 2015.2.
- Chloé Geller, Mihayl Varbanov and Raphaël E. Duval. 2012. Human Coronaviruses: Insights into Environmental Resistance and Its Influence on the Development of New Antiseptic Strategies. *Viruses* 2012, 4, 3044-3068; doi:10.3390/v4113044