



## COVID 19

### Mise en œuvre de la politique publique de tests française Guide d'Appui des laboratoires de renfort

TESTS DE DIAGNOSTIC RT-PCR SARS-CoV-2 SUR DES PRÉLÈVEMENTS HUMAINS EN LABORATOIRES DE RENFORT (en majorité de biologie vétérinaire)

La pandémie de COVID-19 place la France dans une situation sanitaire inédite et entraîne une pression sans précédent sur les services de santé publique. Une approche collaborative multidisciplinaire est nécessaire pour renforcer la capacité française en matière de réalisation de tests afin de suivre la propagation du virus, de contenir sa progression et de répondre aux préconisations des autorités sanitaires. Un tel dispositif peut s'avérer indispensable pour répondre aux objectifs gouvernementaux de 500 000 tests par semaine en sortie de confinement.

Dans le cadre de la Loi 2020-290 du 23 mars 2020 d'urgence sanitaire, le décret 2040-400 du 05 avril 2020 et l'arrêté du 5 avril 2020 ont ouvert la possibilité de recourir à des laboratoires de renfort pour assurer des tests RT-PCR SARS-CoV-2 sous responsabilité d'un LBM et dans le cadre d'une convention établie entre eux. En effet, dans certains cas, les services de diagnostic en laboratoire de biologie médicale sont au maximum de leur capacité ou en rupture des tests compatibles avec leur équipement.

Les laboratoires vétérinaires constituent un renfort pertinent, car ils bénéficient d'une expérience en matière d'assurance qualité (accréditation depuis une vingtaine d'années selon l'ISO 17025 v 2017), de sécurité et de sûreté biologiques (manipulation de pathogènes de classe 3 zoonotique ou épizootique, en laboratoire de sécurité biologique P 3), équipements ouverts pour tests de RT-PCR selon le guide AFNOR U 47-600 (en raison de la multitude d'espèces et de pathologies à traiter, les équipements ne dépendent pas d'un fournisseur), ainsi qu'un niveau de tests à haut débit pour la surveillance et le contrôle des maladies infectieuses chez les animaux, dont certaines sont zoonotiques. D'un point de vue technique, les biologies médicale et vétérinaire répondent aux mêmes spécifications et exigences mais dans un environnement d'acteurs différents.

Les biologies médicale et vétérinaire ont longtemps été proches, cependant la Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale a conduit à leur séparation. Aussi les analyses sur des échantillons humains effectués dans les laboratoires de renfort doivent s'inscrire dans une stratégie d'intervention de santé publique coordonnée, menée par le gouvernement, et les laboratoires effectuant des diagnostics du COVID 19 doivent s'assurer qu'ils respectent les réglementations relatives aux examens de biologie médicale, et selon des méthodes validées par le CNR et ceci dans un délai très contraint du fait de l'urgence sanitaire.

*Suite à la publication par l'Organisation mondiale de santé animale (OIE) d'un guide d'appui aux laboratoires vétérinaires de renfort à la réponse de santé publique au COVID 19, il est apparu utile de travailler sur les aspects identifiés comme devant être spécifiés pour le système de santé Français. Ce guide s'est axé en priorité sur les 3 sujets jugés clés dans la réussite rapide de la mise en place de ce dispositif inédit – les aspects hygiène et sécurité la manipulation d'échantillons humains, la sécurisation des transferts de données (les deux domaines ayant évolué de manière différente) et enfin l'adaptation interne rapide d'une nouvelle méthode dans le respect des prescriptions du CNR.*

Nota : Pour l'élaboration de ce guide d'appui des laboratoires de renfort en France, les auteurs se sont volontairement appuyés sur le Guide d'appui des laboratoires vétérinaires à la réponse de santé publique COVID 19, en reprenant son plan et certains de ses contenus, et les détaillant lorsque jugé nécessaire. La lecture de ce guide est donc à faire en parallèle de celle du guide émis par l'OIE

[https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our\\_scientific\\_expertise/docs/pdf/COV-19/Guidance\\_for\\_animal\\_health\\_laboratories.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Our_scientific_expertise/docs/pdf/COV-19/Guidance_for_animal_health_laboratories.pdf)

## Objet

*Les lignes directrices suivantes visent à soutenir la réponse de l'ensemble de la santé publique en fournissant une liste de considérations clefs dans le cadre d'examens sur des échantillons humains pour le SARS-Cov-2 (agent pathogène du COVID-19) dans les laboratoires de renfort. Ce document ne couvre pas les activités de recherche. Il suit le plan adapté par le guide d'appui de l'OIE.*

***Autant les savoirs et connaissances biologiques sont proches pour les sujets de la Sureté Sécurité biologique (sou- groupe 1 – Annexe 1) et de la vérification / validation des méthodes (sous-groupe 3 Annexe 3),***

***Autant la compatibilité des systèmes d'information médicaux et de ceux des laboratoires de renfort (en majorité vétérinaires) est quasi-inexistante et requiert la mise en place de solutions de partage entrée / sortie des données à fédérer par l'Etat (confère travaux du sous-groupe 2 en Annexe 2).***

## Considérations

### 1. Affaires réglementaires (niveau national)

Le soutien des laboratoires de renfort à la réponse en matière de santé publique doit respecter les cadres réglementaires nationaux et d'intervention en cas d'urgence.

Pendant une crise ou un état d'urgence, le gouvernement a le pouvoir, si besoin est, d'adapter les réglementations existantes pour mettre des ressources à disposition. Cela peut aller jusqu'à modifier des réglementations afin de permettre aux laboratoires de renfort de recevoir et de tester des échantillons humains.

Lors de l'examen du renvoi d'échantillons de laboratoires de biologie médicale vers des laboratoires vétérinaires, une évaluation des risques doit être effectuée, en tenant compte des facteurs tels que la

continuité opérationnelle et l'établissement des priorités, les types d'analyses effectuées et des contraintes spécifiques, l'adaptabilité tout en garantissant le maintien des normes de qualité, l'assurance qualité, la biosécurité (y compris lors du transport d'échantillons) et la biosûreté, la gestion et la communication des données, le personnel et la logistique, et enfin les besoins de formation du personnel. Les stratégies de gestion des risques doivent viser la réduction des risques identifiés. Ce processus soutiendra le développement du cadre de coordination entre les laboratoires vétérinaires et les services de santé publique.

## 2. Continuité opérationnelle et établissement des priorités

Appliquer le Guide OIE.

## 3. Types de tests effectués et contraintes spécifiques : Vérification et Validation des méthodes en Laboratoire de renfort

**Voir en Annexe 3.**

## 4. Adaptabilité

Appliquer le guide OIE.

## 5. Assurance qualité

Appliquer le guide OIE.

La plupart des laboratoires de renfort sont déjà accrédités en France dans les domaines des techniques de la biologie moléculaire animale.

**Afin de garantir un niveau de performance et de fiabilité le plus proche possible de celui des LBM, les laboratoires de renfort devront être accrédités dans le(s) domaine(s) d'intervention équivalent(s) au domaine de la biologie médicale dans lequel ils interviennent en renfort.**

## 6. et 7 Biosécurité et Bio sûreté

Appliquer le guide OIE et **compléter ses exigences par les éléments figurant en Annexe 1 (issus du travail du sous-groupe 1).**

## 8. Gestion communication des données

Appliquer le guide OIE et **compléter ses exigences par les éléments figurant en Annexe 2 (issus du travail du sous-groupe 2).**

## 9. Personnel et logistique

Appliquer le guide OIE et **compléter ses exigences par les éléments figurant en Annexe 1 (issus du travail du sous-groupe 1).**

## 10. Besoins de formation

Appliquer le guide OIE.

## Remerciements et contributions

Le groupe de rédaction du présent guide remercie :

**La Société Française de Microbiologie (SFM) et son Président le Professeur Gérard LINA** pour sa contribution à l'élaboration de ce document et plus particulièrement ses groupes COVID 19, QUAMIC, REMIC et Sécurité-Sureté biologiques.

**L'ADILVA et sa Présidente le Dr vêt Aurèle VALOGNES** pour sa contribution à l'élaboration de ce document.

**La Société Française d'Informatique de Laboratoire et son Président le Dr Éric LAINE** pour sa contribution à l'élaboration de ce document.

**Les participants du groupe assurant des fonctions spécifiques :**

Organisateurs : Viviane MOQUAY et Luc MIELI

Animateur groupe : Luc MIELI

Animateurs sous-groupes : Sébastien ALLIX LE GUEN (Ss groupe 1) ; Éric LAINE (Ss groupe 2) ; Jean Louis GALINIER (Ss groupe 3)

Secrétariat groupe : Véronique BEAUTE et Jean Pierre BOUILLOUX

**Le Comité Français d'Accréditation pour son aide à l'identification des membres du groupe Santé.**

**L'ensemble des membres du groupe ci-après :**

<b>Prénom - NOM</b>	<b>Organisme / Titre</b>
Viviane MOQUAY	MAA – CGAAER - Présidente commission Afnor U 47 A
Luc MIELI	ADILVA/ Conseil Départemental des Cotes d'Armor
Michael TREILLES	ADILVA / QUALYSE
Véronique BEAUTE	ADILVA/ Direction LVD Gard
Isabelle MARTEL	Vice-présidente ADILVA / Direction LDA13
Florence BAURIER	ADILVA/ Direction LVD Cher
Chantal AUDEVAL	ADILVA/ LVD Nièvre
Norchen CHENOUIFI	ADILVA/ Conseil Départemental du Bas Rhin
Françoise LE VACON	Etablissement Français du Sang
Sophie LE CAM	Etablissement Français du Sang
Clarisse DUPIN	Biologie médicale – Hygiène, CH Saint Brieuc

<b>Prénom - NOM</b>	<b>Organisme / Titre</b>
François GUERIN	CHU Caen et Rennes /SFM groupe de travail QUAMIC
Jean Louis GALINIER	SFM Groupe de Travail QUAMIC
Jean Pierre BOUILLOUX	LBM LxBIO, SFM Groupe de Travail QUAMIC, LABAC
Hélène GUILDOUX	Biologie médicale-Biologie vétérinaire - LDA13
Éric LAINE	Président de la SFIL
Sébastien ALLIX LE GUEN	Dir. scient. Lab'Science / SFM (section Sécurité Sûreté Biologiques)

# Annexe 1

## Sécurité et sûreté biologiques pour la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT-PCR

### Version 1

**Recommandations à destination des laboratoires de renfort définis dans l'article 10.2 de l'arrêté du 5 avril 2020 prescrivant les mesures d'organisation et de fonctionnement du système de santé nécessaires pour faire face à l'épidémie de COVID-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire**

**Ces recommandations sont amenées à évoluer en fonction des connaissances scientifiques et/ou des exigences réglementaires.**

### 1. Généralités

Le SARS-CoV-2 responsable de la pandémie COVID-19 apparue en Chine à Wuhan à la fin de l'année 2019 est un nouveau coronavirus présentant 79% d'identité nucléotidique avec le SARS-CoV (souche 2003) et environ 50% avec le MERS-CoV. Il fait partie de la famille des *Coronaviridae*, virus qui sont responsables chez l'être humain et l'animal d'infections, par exemple, respiratoires ou digestives. La transmission habituelle des coronavirus est de type respiratoire « gouttelettes » et contact. Le virus peut rester viable jusqu'à 3 heures au sein d'aérosols : cet aspect doit être pris en compte en laboratoire en cas d'incident de manipulation ayant généré un aérosol avec des prélèvements à risque comme un prélèvement nasopharyngé. Une étude scientifique sur la persistance des coronavirus sur les surfaces inertes a montré que dans cette famille virale, les virus peuvent rester infectieux pendant plus de 5 jours sur des surfaces à température ambiante. Une étude récente a constaté la persistance d'une activité pendant au moins 4 jours pour le SARS-CoV-2 sur une surface plastique ou inox à température ambiante. Les dernières données de Chin et al. montrent que le SARS-CoV-2 est inactivé en 5 minutes par la chaleur à 70°C, l'éthanol 70°, le chloroxyphénol 0.05% ou la chlorhexidine 0.05%. Il est résistant aux pH compris entre 3 et 10 et stable à 4°C pendant au moins 14 jours. Les produits commerciaux utilisés pour la décontamination doivent être conformes à la norme EN 14476. Ils sont utilisés suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration, du temps de contact et DLU).

Les données sur le suivi de patients COVID-19 hospitalisés en France rapportent une virémie inconstante, faible et de courte durée, principalement décrite dans les formes sévères (SDRA). La virurie reste inexistante. En revanche, la quantité de virus dans les prélèvements respiratoires et dans les selles peut être élevée. Des cas de contamination du personnel soignant ont été décrits mais aucun cas de contamination du personnel de laboratoire n'a été rapporté.

Ces éléments permettent d'évaluer le risque associé à la manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir du SARS-CoV-2 (prélèvements respiratoires et selles) pour le diagnostic d'infection COVID-19 par RT-PCR.

Selon les recommandations de l'OMS, le CDC, de l'ECDC et la fiche de gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19 éditée par la Société Française de Microbiologie, la manipulation des échantillons biologiques, en particulier les écouvillons nasopharyngés, doit s'effectuer au minimum dans un LSB2/P2<sup>1</sup> en respectant les bonnes pratiques de travail, particulièrement lors des manipulations pouvant générer accidentellement des aérosols et en mettant à disposition des personnels la conduite à tenir en cas d'incident.

## 2. Mesures générales

Le laboratoire de renfort doit définir la catégorie et la liste de personnel amené à travailler sur les prélèvements dans le cadre du diagnostic COVID-19. Il doit établir un plan de formation adapté pour la manipulation d'échantillons biologiques d'origine humaine pour ce personnel et en assurer la formation.

L'article L.3111-4 du code de la santé publique établit la liste des professionnels de santé qui doivent être immunisés contre l'hépatite B, la diphtérie, le tétanos et la poliomyélite. Les personnels des laboratoires d'analyses de biologie médicale sont concernés par ces vaccinations. Il est recommandé aux laboratoires de renfort de prendre en compte ces risques pour la manipulation de prélèvements d'origine humaine.

Dans ce dispositif, les laboratoires de renfort reçoivent des prélèvements sur écouvillon. Dans le cas de la réception d'un autre type de prélèvement, il convient de se rapprocher du laboratoire expéditeur pour connaître les précautions particulières à prendre.

## 3. Diagnostic et prélèvements

En France, le diagnostic spécifique de COVID-19 est réalisé actuellement par RT-PCR spécifique sur un prélèvement nasopharyngé (écouvillons Virocult® ou autres écouvillons, aspirations). Ces prélèvements sont considérés à risque et doivent faire l'objet de mesures renforcées au laboratoire

---

<sup>1</sup> Annexe 2 de l'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes

pour leur manipulation : sensibilisation du personnel, port obligatoire d'EPI de la réception jusqu'à l'étape d'inactivation du virus (extraction des acides nucléiques).

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité d'un professionnel de santé par un laboratoire de biologie médicale (phase pré-analytique).

#### **4. Acheminement et réception des prélèvements**

Le laboratoire de biologie médicale (expéditeur) et le laboratoire de renfort (destinataire) devront établir avant toute expédition, les modalités de transport des prélèvements. Une attention particulière doit être portée sur le volume de prélèvements quotidien à transporter.

Ils devront s'assurer du respect de la réglementation pour le transport par route de matières dangereuses de l'arrêté dit "TMD" du 29 mai 2009.

L'emballage recommandé est le triple emballage catégorie B (UN 3373) notice d'instruction P650.

La réception des prélèvements peut suivre le circuit usuellement utilisé dans le laboratoire de renfort. L'intégrité de l'emballage est contrôlée dès son arrivée sur site. En cas de transport interne sur le site depuis son point de réception, l'emballage est transporté sans être préalablement ouvert. Dans ce cadre, le transport pédestre doit être privilégié. En cas de fuite à sa réception, l'emballage doit être détruit et éliminé en DASRI. L'analyse du prélèvement ne doit pas être réalisée.

Les emballages secondaires contenant les prélèvements inactivés à analyser doivent être ouverts sous PSM de type 2 avec port de gants. Les précautions standard de manipulation doivent être respectées.

#### **5. Mesures de sécurité biologique au laboratoire**

La manipulation des prélèvements nasopharyngés doit se faire au minimum dans un laboratoire LSB2/P2, sous PSM de type 2 jusqu'à leur inactivation virale.

Les phases à risque de contamination des personnels par un prélèvement nasopharyngé après réalisation du prélèvement sont le transport, la réception et plus particulièrement l'ouverture des échantillons et toutes les phases de mise en œuvre au laboratoire jusqu'à l'inactivation virale lors de l'extraction des acides nucléiques (tampon de lyse).

Pour ces phases à risque, et en complément des conditions de sécurité biologique usuellement mises en œuvre dans le laboratoire, des conditions supplémentaires sont recommandées pour réduire le risque de contamination en cas d'accident :

- Travailler à un poste de travail dédié à l'activité. Son accès est réservé aux seuls personnels formés, identifiés et habilités. Si besoin, la liste des personnels autorisés est affichée sur la porte ;

- En fonction de l'organisation du laboratoire, et si nécessaire, indiquer sur la porte d'entrée de l'espace de travail "manipulation en cours – COVID-19" ;
- Limiter le nombre de personnel dans l'espace de travail ;
- Port d'EPI :
  - o Gants à usage unique ;
  - o Masque FFP2 ;
  - o Surblouse à usage unique lors de manipulation à risque (ouverture de prélèvements, manipulations avant inactivation virale).
- Le vortexage doit se faire sous PSM de type 2 ;
- Le poste de sécurité microbiologique doit être nettoyé après usage avec un détergent-désinfectant virucide (EN 14476) en suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration, du temps de contact et la DLU) ;
- Disposer et afficher une procédure décrivant la conduite à tenir en cas de déversement de liquides biologiques ou de projections sous le PSM de type 2 ;
- Disposer et afficher une procédure décrivant la conduite à tenir en cas d'accident d'exposition au sang (Cf. annexe 1). En effet les écouvillons nasopharyngés peuvent contenir du sang en lien avec un prélèvement traumatique ;
- Attention particulière à l'hygiène des mains (savon ou SHA) à chaque retrait de gants et à la fin des manipulations.

Si les échantillons sont manipulés en P3, les règles du P3 s'appliquent notamment pour les EPI.

Une fois inactivés, les échantillons peuvent être manipulés selon les règles conformes à la biologie moléculaire.

Si des prélèvements positifs non inactivés doivent être conservés, ils doivent être clairement identifiés "COVID-19 +", stockés en double emballage et en toute sécurité dans un espace dédié, et accessibles aux seuls personnels autorisés.

## 6. Gestion des déchets

Les déchets générés avant l'inactivation virale sont déposés dans un mini collecteur DASRI pour déchets perforants sous PSM de type 2. En fonction de l'organisation du laboratoire, ils sont :

- Soit éliminés dans un fût plastique rigide pour DASRI pour être autoclavés (exemple, 20 min à 121°C) avant leur sortie de l'espace dédié ;

- Soit remplis avec de l'eau de Javel 0,5% ou tout autre désinfectant actif contre le SARS-CoV-2, fermés hermétiquement puis éliminés dans un fût plastique rigide pour DASRI. Les fûts rigides sont à privilégier pour être décontaminés extérieurement avant leur sortie de l'espace dédié.

Les autres déchets (gants, papiers, essuie tout de nettoyage...) sont gérés de la même façon que les autres déchets DASRI du laboratoire.

Après leur sortie de l'espace dédié, les DASRI rejoignent le circuit standard des déchets pour leur stockage avant collecte, puis leur prise en charge pour destruction finale.

## 7. Références

- Manuel de sécurité et sûreté biologiques, 2<sup>ème</sup> édition, 2019 (SFM).
- Fiche SFM : Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19 - Version 5 - Avril 2020.
- Fiche AA775 (INRS) : Conduite à tenir en cas d'accident avec exposition au sang.
- 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
- Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19), interim guidance 2 march 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020
- Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. interim guidance 12 february 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5<sup>th</sup> 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](http://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<sup>ème</sup> édition. [www.emro.who.int/fr/health-topics/biosafety](http://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.

- AM Pagat, R Seux-Goepfert, C Lutsch, V Lecouturier, JF Saluzzo, and I C. Kusters. Evaluation of SARS-Coronavirus Decontamination Procedures. *Applied Biosafety* (2007); 12(2): 100-108.
- C Geller, M Varbanov and R.E. Duval. Human Coronaviruses: Insights into Environmental Resistance and Its Influence on the Development of New Antiseptic Strategies. *Viruses* (2012); 4, 3044-3068.
- R Lu, X Zhao, J Li, P Niu, B Yang, H Wu, et al. Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* (2020); 395 (10224): 565-74.
- G Kampf, D Todt, S Pfaender, E Steinmann. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *Journal of hospital infection* (2020); 104: 246-251.
- N Van Doremalen, T Bushmaker, D H. Morris, M Phil, M G. Holbrook, A Gamble, B N. Williamson, A Tamin, J L. Harcourt, N J. Thornburg, S I. Gerber, J O. Lloyd-Smith, E de Wit, V J. Munster. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *The New England Journal of Medicine* (2020); 1056/NEJMc2004973.
- Alex W H Chin, Julie T S Chu, Mahen R A Perera, Kenrie P Y Hui, Hui-Ling Yen, Michael C W Chan et al. Stability of SARS-CoV-2 in different environmental conditions. *The Lancet* (2020); Published: April 02, 2020 DOI: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30003-3](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30003-3).



## Conduite à tenir en cas d'accident avec exposition au sang

### Qu'est-ce qu'un AES ?

#### Tout contact avec :

- > du sang
- > un liquide biologique contenant du sang
- > un liquide biologique non visiblement souillé de sang mais considéré comme potentiellement contaminant tel que liquide céphalo-rachidien, liquide pleural, sécrétions génitales...

#### lors :

- > d'une piqûre ou d'une coupure avec un objet contaminé (seringue, scalpel...)
- > d'un contact sur peau lésée
- > d'une projection sur une muqueuse (œil, bouche, nez)

### 1 En urgence : premiers soins à faire

#### ■ Si piqûre, coupure, ou contact sur peau lésée

- Ne pas faire saigner.
- Nettoyer immédiatement la zone cutanée à l'eau et au savon puis rincer.
- Désinfecter pendant au moins 5 minutes avec l'un des désinfectants suivants :
  - Dakin<sup>®</sup>,
  - eau de Javel à 2,6 % de chlore actif diluée au 1/5<sup>e</sup>,
  - ou à défaut : - polyvidone iodée en solution dermique,
  - alcool à 70<sup>e</sup>.

#### ■ Si projection sur muqueuses

- Rincer abondamment au moins 5 minutes, au sérum physiologique ou à l'eau.

### 2 Dans l'heure : prendre un avis médical

- Pour évaluer le risque infectieux (notamment VIH, VHB et VHC) en fonction du :
  - statut sérologique de la personne source avec son accord (notamment vis-à-vis du VIH par test rapide),
  - type d'exposition,
  - immunité de la personne exposée (hépatite B).
- Pour mettre en route si besoin un traitement post-exposition le plus tôt possible et au mieux dans les 4 heures pour une efficacité optimale.

Numéro à contacter en urgence

### 3 Dans les 24 heures

- Informer votre hiérarchie.
- Déclarer l'accident du travail.
- Suivre les recommandations du médecin pour votre suivi clinique et sérologique.
- Informer votre médecin du travail notamment pour effectuer l'analyse des causes de l'accident afin d'éviter qu'il ne se reproduise.

Coordonnées du médecin du travail

# Annexe 2 version 1

## Gestion des données entre Laboratoires de Biologie Médicale et laboratoires de renfort dans la crise COVID 19

### 1 - Historique – Contexte - Enjeux

Les activités d'analyses de biologie médicale et de santé animale sont disjointes dans la plupart des pays.

La montée au front en renfort de laboratoires non usuellement dédiés à des analyses de biologie médicale dans le cadre de la crise Covid 19 s'avère une nécessité dans de très nombreux pays, du fait

- du très grand nombre de tests potentiels à mettre en œuvre pour la gestion de la crise dans la durée.
- De l'utilisation d'automates de biologie médicale pour la plupart fermés, augmentant la dépendance aux ruptures de stocks de réactifs du fournisseur du couple automate/réactif dédié à disposition des LBM.

Un des enjeux de la gestion des données est d'éviter autant que faire se peut de dégrader nettement le niveau de sécurité de transfert, de traçabilité, de stockage des résultats acquis dans un contexte de crise sanitaire.

Le contexte d'urgence et l'impréparation collective à ce type de situation amènent inévitablement à une première phase de mise en place de solutions coopératives locales par le biais de conventions bipartites LBM - laboratoire de renfort, notamment dans le cadre de l'arrêté et le décret du 4 avril 2020.

Dans cette première phase, la gestion des données est faite au mieux des moyens informatiques existants, globalement peu compatibles.

Le besoin d'évoluer vers une 2ème phase plus stabilisée et collectivement mutualisée est patent, et requiert des moyens dont la mobilisation semble être du ressort de l'état, afin de :

- Disposer d'une **solution fédératrice pour l'ensemble des parties prenantes**, (CNR, LBM, Laboratoires de renfort, DGS, DGAL, Santé Publique France, etc...)
- **Limiter au plus court la première phase**, dont le niveau de sécurisation peut hypothéquer l'efficacité de gestion, la crédibilité des acteurs du test et celle du plan de gestion.
- **Gérer de manière efficiente tant que le besoin existe**,
- **Disposer d'un outil de gestion des données laboratoire fédérant durablement santé humaine et santé animale dans le cadre du concept « One Health » (Une seule santé) : Préparation aux crises suivantes ...**

## 2 - Situation constatée – Principaux éléments

- **Plusieurs formats d'entrée différents** du fait de l'absence de standard de codes d'identification des échantillons/paramètres entre les différents SI de Biologie Médicale. :

*La nécessité de construire un interface permettant une standardisation du format des codes d'entrée est incontournable pour faciliter le travail d'entrée des échantillons dans les laboratoires de renfort, leur traçabilité, et le retour des résultats avec un risque minimal d'erreur.*

- **Plusieurs formats de sortie et types de données possibles**, exigibles par les biologistes médicaux pour engager leur responsabilité dans la validation des tests réalisés par les laboratoires de renfort.

*Nécessite de construire un interface permettant une vérification et standardisation du contenu et format des sorties.*

- La connexion des automates dans certains laboratoires vétérinaires ou médicaux n'est pas généralisée : C'est à gérer par chaque laboratoire concerné, dans son analyse de risques.

## 3 - Recommandations de sécurisation des données dans un contexte d'impréparation et d'urgence à agir :

Avoir une approche d'identification et de maîtrise des risques et l'appliquer à chaque solution locale (méthode AMDEC ou équivalente) avant mise en œuvre (ou en rattrapage pour les solutions locales déjà mises en œuvre) :

Approche à mener par le laboratoire de renfort (si besoin soutenu par une compétence externe) et à vérifier/valider par le LBM (si besoin soutenu par une compétence externe)

## 4 - Possibilités – Avantages et Inconvénients :

Appliquer Amdec (ou équivalent) selon même répartition des responsabilités qu'en paragraphe 3.

**4.1 Possibilités** : voir Annexe 2.1 nommée "Circuit des données demandes et résultats"

**4.2 Tableau d'analyse méthodologique des flux d'information selon Amdec** : Voir Annexe 2.2 du même nom

## 5 - Besoins afférents

- Recenser et Mobiliser les fournisseurs de SI et Middleware LBM et des SI Laboratoires de renfort. (Mobilisation par l'état des fournisseurs de ces services)
- Mettre en place une équipe de coordination projet (dont membres du groupe 2) et

des moyens de programmation au niveau état pour mettre en place la phase 2 et garantir son aboutissement sous quinzaine.

## **Annexes**

- Circuit des données demandes et résultats
- Tableau d'analyse méthodologique des flux d'information selon Amdec

## **Références documentaires**

- Appui des laboratoires vétérinaires à la réponse de santé publique au COVID-19 – Office International des Epizooties
- NF U47-700 : Méthodes d'analyse en Santé Animale - Système d'échange de données dématérialisée dans les laboratoires d'analyse - ELabs Santé animale
- Tableau des données en entrée et sortie du SIL du LBM
- Extrait de la norme Hprim 2.4
- Guide Interop'Santé
- Norme ISO NF 15189 v2012
- Norme ISO 17025 v2017
- Projet de convention type entre LBM et labo vétérinaire
- Extrait
  - Dictionnaire examen de SIL
  - Traçabilité d'une demande du SIL

Décret 4 avril 2020

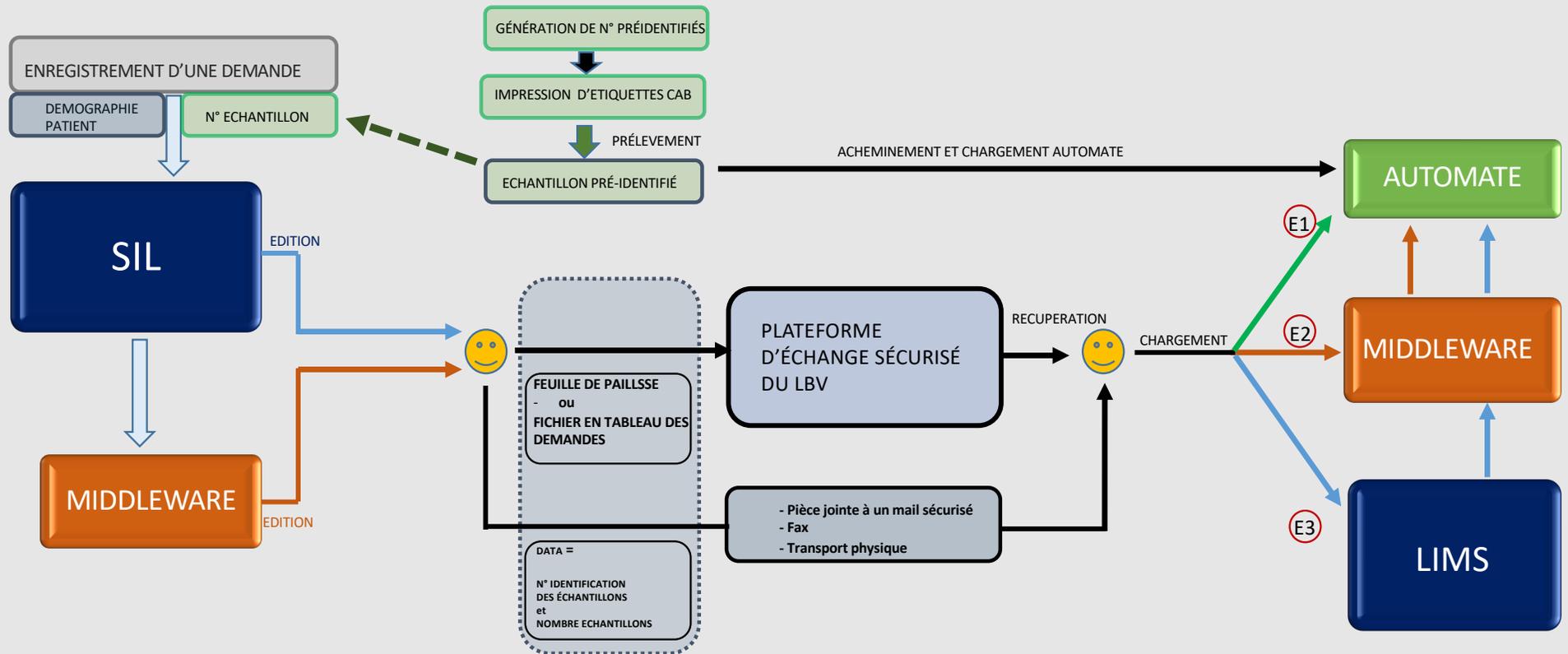
Arrêté du 4 avril 2020

# Schémas Descriptifs des circuits de données demandes et résultats

GROUPE DE TRAVAIL :

Guide de bonnes pratiques de gestion pour les couples LBM-laboratoire de renfort Covid 19

SOUS-GROUPE N°2 : GESTION DES DONNÉES INFORMATIQUES – ANNEXE 2.1

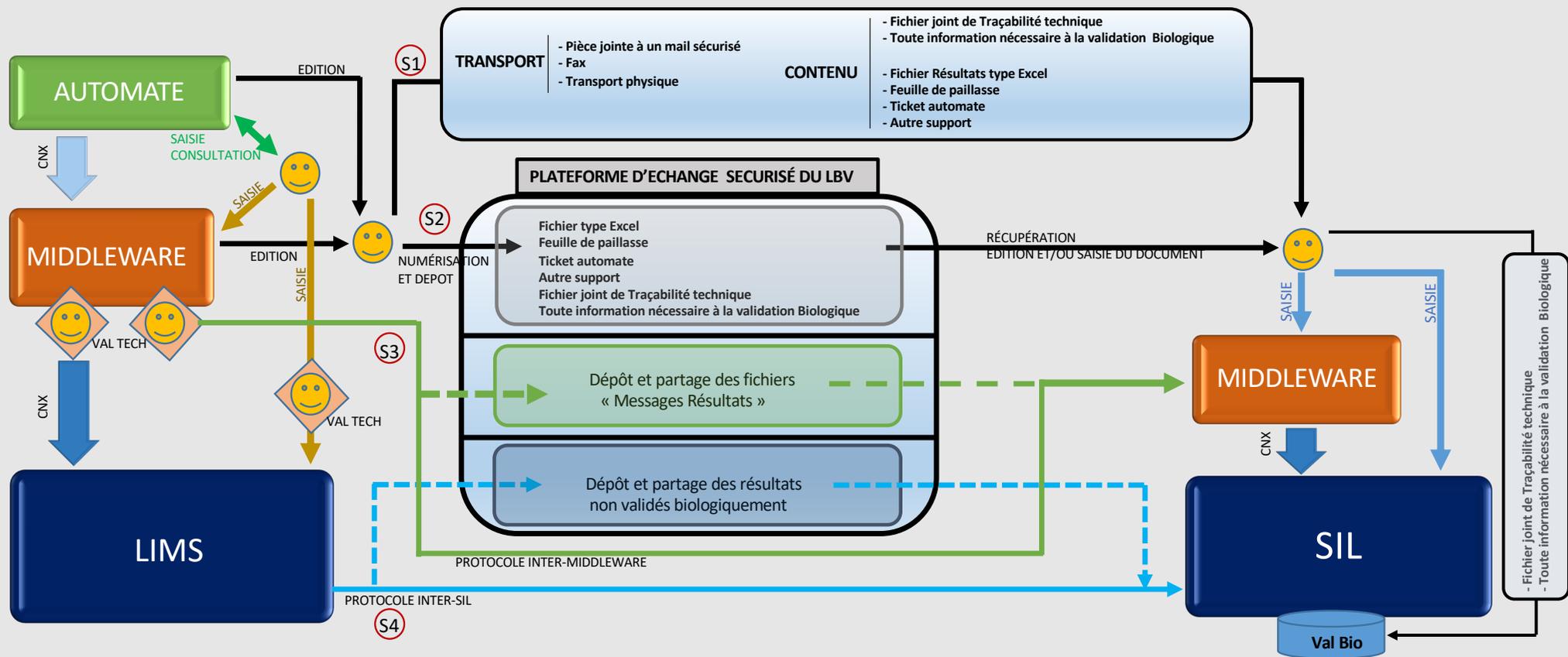


LABORATOIRE DE BIOLOGIE HUMAINE MULTISITE (LBM) N°1

LABORATOIRE DE BIOLOGIE VÉTÉRINAIRE (LBV)

## LBM vers LBV : CIRCUIT DES DONNÉES « DEMANDES »

GRUPE DE TRAVAIL : Bonnes pratiques de gestion pour les couples LBM-laboratoire de renfort Covid 19 SOUS-GROUPE N°2 : GESTION DES DONNÉES INFORMATIQUES



## LBV vers LBM : CIRCUIT DES DONNÉES « RESULTATS »

# Glossaire

CAB	: Code à barre
CNX	: Connexion
DATA	: Donnée
E1, E2,...	: Données en entrée concernant le cas d'usage N°1, Données en entrée concernant le cas d'usage N°2,...
MIDDLE WARE	: Logiciel créant un réseau d'échange entre différentes applications
LBM	: Laboratoire de Biologie Multisite
LBV	: Laboratoire de Biologie Vétérinaire
LIMS	: Laboratory Management Information System (cf. SIL)
S1, S2,...	: Données en sortie concernant le cas d'usage N°1, Données en sortie concernant le cas d'usage N°2,...
SIL	: Système d'Information de Laboratoire (cf. LIMS)
VAL TECH	: Validation Technique
VAL BIO	: Validation Biologique

## Tableau d'analyse méthodologique des flux d'informations selon Amdec (ou méthode équivalente)

Combinaison E/S	Risques identifiés	Moyens de maitrise des risques identifiés	Moyens à engager et Échéances de mise en oeuvre
E1/S1			
E1/S2			
E1/S3			
E1/S4			
E2/S1			
E2/S2			
E2/S3			
E2/S4			
E3/S1			
E3/S2			
E3/S3			
E3/S4			

**Nota bene** : Ce tableau est un guide qui n'a pas vocation à être complété intégralement pour tous les couples de solutions E/S par chaque laboratoire, mais à lui permettre de disposer d'un support modèle apte à relever les risques des principales options E/S qu'il envisage afin de gérer ceux-ci au mieux de ses moyens.

*Groupe de travail : « Guide de bonnes pratiques de gestion pour les couples LBM-laboratoire de renfort Covid 19 »*

*Sous groupe 2 : Gestion des données informatiques – Tableau d'analyse méthodologique des flux d'information selon Amdec ou équivalent (Annexe 2-2)*

# Annexe 3

(Version 2 du 12/06/2020)

## Plan de Vérification / Validation d'une méthode qualitative d'amplification génique pour la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT PCR réalisée par un laboratoire de renfort (LR), placé sous la responsabilité d'un laboratoire de biologie médicale LBM accrédité selon la norme NF EN ISO 15189

### Préambule

La mise en œuvre d'une collaboration LBM/LR après l'accord d'un représentant de l'état (arrêté du 3 mai 2020) comprend 5 éléments majeurs, variant selon les collaborations et impactant la validation/vérification de méthode :

- le LBM doit être préalablement accrédité ou en démarche d'accréditation et dont la portée inclut la technique RT-PCR sous réserve du maintien de l'arrêté du 12 mai 2020 (Article L. 162-1-7) ;
- la manipulation en environnement NSB2 est obligatoire ;
- les réactifs utilisés doivent impérativement avoir un marquage (CE-IVD) ou être en cours de marquage CE-IVD ou avoir été validés par le CNR avant tout usage diagnostique (Arrêtés du 23 mars 2020 et du 05 avril 2020) ;
  - o Critères requis : 2 cibles
  - o Liste régulièrement mise à jour (cf. veille documentaire : <https://solidarite-sante.gouv.fr/IMG/pdf/liste-reactifs-diagnostic-rt-pcr.pdf>)
- le matériel utilisé dans les laboratoires de renfort (ci-après LR), n'est pas toujours marqué CE-IVD ( dispositif de Diagnostic In Vitro) et peut de ce fait être utilisé en mode RUO (Research Usage Only : réservé à des fin de recherche) par exemple ;
- l'ensemble de l'étape analytique pratiquée par les LR est placée, comme la phase pré- et post- analytique, sous la responsabilité du biologiste médical.

Dans le cas d'une coopération entre Laboratoire de biologie médical (LBM) et Laboratoire de renfort (LR), il revient au LBM d'apporter la preuve de la compétence du LR mais aussi de ses capacités organisationnelles.

D'autre part, le LR doit prendre en compte les besoins du LBM (en rapport avec les référentiels opposables : HAS\*, SFM\*\* et les règlements CSP<sup>α</sup>, NABM <sup>αα</sup> dont le LBM assure la veille documentaire) et les exigences de l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189.

Les activités spécifiques, objets de la convention de partenariat, se font sous le contrôle et la responsabilité du LBM qui mettra en place des dispositions pour s'assurer régulièrement que les exigences contractuelles sont respectées (les exigences du cahier des charges pouvant figurer dans la convention ou dans ses annexes)

La démonstration de la compétence et des performances du LR devront être établies à partir d'éléments concrets et pertinents : accréditation du LR avec compétence en techniques de biologie moléculaire, audit, habilitation des opérateurs concernés, envoi d'échantillons à intervalles définis ou adaptés aux changements techniques, analyse de la fidélité et de l'exactitude (liste non limitative).

L'annexe 3 de ce document détaille les attentes du LBM en matière de vérification/validation de méthode.

Le biologiste médical pourra donc moduler son cahier des charges en fonction du niveau de maîtrise technique du LR et des preuves associées ainsi que de l'expérience des exigences normatives (NF EN ISO 15189 et/ou NF EN ISO/IEC 17025) du LR. En l'absence de maîtrise des normes qualité par les LR, il est fortement souhaitable que le biologiste médical et le RQ du LBM participent activement à la mise en place des dispositions du LR (choix stratégiques de contrôles renforcés, comparaison des techniques mises en œuvre ou modalités de confirmation de certains résultats par exemple), et en vérifient l'application afin d'instaurer un climat de confiance indispensable dans ce type de collaboration inédite. Il est rappelé que le processus analytique, dans son ensemble, est sous la responsabilité et le contrôle du biologiste médical.

Par ailleurs, **le contexte de crise sanitaire dont découlent un ensemble de contraintes** (déploiement de méthodes en urgence, changement de matériel de prélèvement ou de réactif d'analyse en urgence lié à une pénurie d'écouvillon ou de réactifs, par exemple) crée une situation particulière prise en compte dans ce document. **Dans ce contexte, certaines étapes du plan de vérification/validation de méthode pourront être évaluées ou réévaluées a posteriori.**

Cette annexe prend en compte l'ensemble de ces éléments (collaboration LBM/LR, crise sanitaire) pour guider la validation/vérification de méthode selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189. Cette validation/vérification de méthode s'inspire, en le complétant, du chapitre 25 du Quamic 2019 (vérification d'une méthode qualitative d'amplification génique). La partie maîtrise des risques renvoie fréquemment à la MRG (maîtrise des risques génériques) traitée au chapitre 12 du Quamic 2019.

(HAS \*: Haute autorité de Santé ; SFM\*\* : Société Française de Microbiologie ; CSP  $\alpha$  : Code de la Santé Publique ; NABM $\alpha\alpha$  : Nomenclature des actes de Biologie Médicale)

## 1. Description du processus

Les modalités de vérification à considérer pour le processus d'une RT-PCR comprennent :

Descriptif du sous-processus Portée A <input type="checkbox"/> ; Portée B <input type="checkbox"/> (à justifier selon SH REF 08)			
Processus	E/B/NA/MR*		Modalités de vérification
Méthode qualitative d'amplification génique en période de crise sanitaire	NA ou E <sup>§</sup>	<input type="checkbox"/>	1. Répétabilité
	E	<input checked="" type="checkbox"/>	2. Fidélité intermédiaire
	NA ou MR <sup>§</sup>	<input type="checkbox"/>	3. Variabilité inter-opérateurs
	NA	<input type="checkbox"/>	4. Justesse
	E	<input checked="" type="checkbox"/>	5. Exactitude
	B	<input checked="" type="checkbox"/>	6. Sensibilité et spécificité analytique
	MR	<input checked="" type="checkbox"/>	7. Incertitude de mesure
	B	<input checked="" type="checkbox"/>	8. Etendue de mesure/Limite de détection
	E	<input checked="" type="checkbox"/>	9. Comparaison de méthodes
	B et MR	<input checked="" type="checkbox"/>	10. Interférences
	MR	<input checked="" type="checkbox"/>	11. Contamination
	MR	<input checked="" type="checkbox"/>	12. Robustesse et fiabilité des réactifs
	NA	<input type="checkbox"/>	13. Intervalle de référence

\* E : Essai, B : Bibliographie, NA : Non Applicable, MR : Maîtrise des Risques

§ variable selon la méthode utilisée, cf. évaluation des performances.

## 2. Description de la méthode

Descriptif	A renseigner
<b>Analyte/Mesurande</b>	Détection d'ARN de virus dans des échantillons biologiques provenant des voies respiratoires hautes ou basses
<b>Principe de la méthode</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Extraction des acides nucléiques</li> <li>- Amplification génique (type RT-PCR) avec sondes et amorces spécifiques</li> </ul>
<b>Type d'échantillon primaire</b>	Décrire les types d'échantillons concernés : Prélèvements naso-pharyngés, lavages broncho-alvéolaires, etc.
<b>Type de récipient, additifs</b>	Type de tubes, écouvillons, etc. utilisables, à citer en fonction de l'analyse ±écouvillons et/ou milieu de transport qui auront été validés, le cas échéant (contexte de pénurie d'écouvillons)
<b>Pré-traitement de l'échantillon</b>	A décrire en fonction des échantillons. Par exemple : inactivation du virus par la chaleur
<b>Unités</b>	NA
<b>Critères d'interprétation</b>	Présence/absence/ équivoque / ininterprétable
<b>Marquage CE (Oui/Non)</b>	<b>Les éléments dont la criticité est impactée par l'absence d'un marquage CE sont signalés par un fond bleu dans la partie maîtrise des risques. Préciser si validation des réactifs de RT PCR par le CNR Oui/non</b>
<b>Codage C.N.Q. (s'il existe)</b>	
<b>Equipement</b>	Extracteur (marque, modèle, référence, type de marquage) Thermocycleur (marque, modèle, référence, type de marquage)
<b>Référence du réactif</b>	Citer les réactifs (référence fournisseur) Choix des réactifs : critères repris par Arrêté du 7 mars et du 12 mai 2020 : 2 cibles / Dispositifs validés par le CNR ou marqués CE-IVD.
<b>Matériaux d'étalonnage (références)/ Raccordement métrologique</b>	Non applicable (absence d'étalon ou de matériaux de référence certifié)
<b>Type d'étalonnage, nombre de niveaux et valeurs</b>	Non applicable (absence d'étalon ou de matériaux de référence certifié)

### 3. Mise en œuvre

Descriptif	A renseigner
<b>Opérateurs (Habilitation)</b>	Identité du ou des opérateurs, du ou des biologistes non médicaux et du ou des biologistes médicaux référents
<b>Procédure de validation/mode opératoire</b>	Référence et version de la procédure utilisée
<b>Procédure de gestion de la portée flexible</b>	Référence et version de la procédure utilisée
<b>Période d'étude</b>	Préciser la date du : xx/xx/xx au xx/xx/xx Préciser si reprise des résultats antérieurs
<b>Date de 1<sup>ère</sup> utilisation</b>	Préciser xx/xx/xx (mise en route de/des réactifs et automates)

### 4. Maîtrise des risques de l'étape analytique pour les laboratoires de renfort

Le laboratoire adaptera et complètera cette maîtrise des risques présentée à titre d'exemple en fonction de ses spécificités et de ses besoins. **La complétude du dossier pourra être atteinte a posteriori pour certains items au vu de la situation de crise (items catégorisés 3).**

**La maîtrise des risques décrite ci-dessous ne porte que sur la phase analytique prise en charge dans le LR. Certaines étapes (identitovigilance par exemple) sont néanmoins à prendre en compte.**

**En l'absence de marquage CE-IVD sur un automate, des garanties de sécurité et de performances peuvent manquer.** Néanmoins, elles peuvent être présentes et/ou fournies par le fabricant. Le LBM devra s'en assurer. En leur absence, le laboratoire mettra en place les palliatifs permettant d'assurer un respect de la norme NF EN ISO 15189.

L'utilisation de ce type de matériel impacte le système d'assurance qualité des LBM travaillant sous accréditation et qui doivent assurer la continuité de leur accréditation. Tout au long de ce document, les points impactés par l'utilisation de matériel sans marquage CE-IVD sont indiqués par un fond bleu, avec les moyens palliatifs de maîtrise que le LBM peut apporter dans la conduite de son dossier. Il s'agit d'exemples.

Enfin et compte tenu de la situation de crise, une priorisation des points est proposée. Celle-ci-tient compte de leur criticité dans la production de résultats fiables et elle est présentée en 3 niveaux :

- **1 OBLIGATOIRE** avant démarrage de la production des résultats
- **2 RECOMMANDE** et si possible avant démarrage
- **3 DANS LE CADRE D'UN MAINTIEN/AJOUT ACCREDITATION**, gestion a *posteriori* acceptable

Dans la suite du document, les risques communs à toute méthode de diagnostic microbiologique sont indiqués par un fond gris (maîtrise des risques génériques, MRG), les risques spécifiques à la méthode de RTPCR le sont par un fond blanc, et les risques spécifiques à l'utilisation d'un matériel RUO par un fond bleu comme indiqué ci-avant.

**Pour mémoire** : la maîtrise des risques d'un point de vue « Matière/ Echantillon » comprend également les points critiques sur le prélèvement, la qualité de l'échantillon (quantité, qualité), le délai et la température d'acheminement des échantillons au LBM. Ils ne sont pas mentionnés ici car relevant du LBM plus que du LR, mais le LBM prendra soin de les maîtriser, le plus souvent d'après une maîtrise des risques génériques (Quamic 2<sup>ème</sup> édition, Chapitre 12, 2019).

5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise et documentation
Matériau	Identitovigilance (tubes primaires ou en cas d'aliquotage)	Cf. chapitre maîtrise des risques génériques (MRG) - Chapitre 12, Quamic 2 <sup>ème</sup> édition, 2019, SFM, p 111-8. Procédure de gestion des listes de travail, étiquetage ou de numérotation des aliquots
	Identification des échantillons, transmission des listes de travail	<b>Priorité 1</b> Documentation procédure du laboratoire de renfort
	Qualité des contenants (écouvillon, flacons)  NB : point critique à maîtriser que le matériel soit marqué CE-IVD ou non	<b>Priorité 1</b> - Matériel adapté à de la biologie moléculaire - Adapter l'utilisation de l'écouvillon aux caractéristiques du matériel (épaisseur de la tige par exemple orientant vers un prélèvement nasal profond plutôt que nasopharyngé) - Vérifier la compatibilité du matériel de prélèvement (milieu de transport adapté aux écouvillons, par exemple) - En cas d'écouvillon sans marquage CE-IVD, vérifier l'absence d'inhibiteurs
	Compatibilité de différentes matrices destinées à être utilisées avec le couple matériel- réactif  NB : point critique à maîtriser que l'appareil soit marqué CE-IVD ou non	<b>Priorité 1</b> En l'absence de données (bibliographie, évaluation sur site), seules les conditions testées lors de l'évaluation de l'automate sont validées
	Délai et température d'acheminement des échantillons (traités ou non)	Cf. chapitre MRG
	Pré-traitement de l'échantillon si nécessaire (inactivation par la chaleur par exemple)	<b>Priorité 1</b> En fonction d'une analyse de risques Documentation procédure du laboratoire de renfort
	Matériaux de référence CIQ EEQ	CIQ :  • indépendant du kit pour chaque PCR (si disponible)  • passage régulier (définir la fréquence en fonction de l'équipement et du contexte)  Si CIQ « maison » : apporter la preuve de la stabilité

Matériaux nécessaires pour établir et surveiller les performance Biothèque	<p>L'aide de laboratoire de référence tiers (CNR, CHU, laboratoire spécialisé, autre) est en particulier nécessaire lorsque le LBM n'a pas de biothèque suffisante soit parce qu'il ne pratique pas ou plus la technique RT-PCR COVID, soit que son recrutement ne lui permet pas de caractériser complètement les échantillons : pas d'accès au dossier médical (clinique + imagerie) ; pas de seconde technique. Le besoin peut donc aussi se manifester pour des laboratoires utilisant matériel et réactif marqué CE notamment :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Lors de la validation initiale de la méthode pour établir les performances (réactifs+ matériels)</li> <li>➤ Pour « contrôle » lorsqu'un sous processus est modifié</li> <li>➤ En continu à intervalle défini par le LBM en complément ou en attente d'EEQ</li> </ul>
--	--

5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise et documentation
Milieu	Organisation des locaux et du flux à valider par le biologiste médical ou le RQ du LBM si le laboratoire de renfort n'est pas accrédité sur cette ligne de portée	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Environnement de travail NSB2</li> <li>- Plan des locaux (séparation des pièces de biologie moléculaire ou utilisation de <i>full automate</i> où toutes les étapes se déroulent sur le même appareil)</li> <li>- Les tests réalisés sans ouverture de tube et sans risque de casse (attention aux capillaires en verre) peuvent se concevoir dans des pièces classiques sans précaution particulière</li> <li>- Gestion des déchets</li> </ul>
	Conditions de conservation des échantillons ou des acides nucléiques extraits après analyse	Cf. chapitre MRG
	NB : point critique à maîtriser que l'appareillage soit marqué CE-IVD ou non	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>Priorité 3</b> pour le post-analytique. Évaluation <i>a posteriori</i> en cas de conservation des échantillons au-delà des recommandations (température ambiante et/ou réfrigérée et/ou congélation)</li> <li>- le cas échéant, commentaire sur le compte rendu du résultat indiquant une éventuelle baisse de sensibilité</li> </ul>
	Conditions de conservation des réactifs	Cf. chapitre MRG
Conditions environnementales Précision sur les conditions d'utilisation des équipements (température, humidité, etc.)	<b>Priorité 2</b> En l'absence de données, maintenir l'appareil dans les conditions de réalisation des essais de performances	

	<p>Sensibilité à l'environnement (par exemple : alimentation électrique, rayonnement électromagnétique, électrostatique, nécessité d'une alimentation ondulée ou secourue)</p> <p>Présence de dispositif de sécurité (par exemple : l'appareil cesse de fonctionner au-delà d'une certaine température)</p>	<p><b>Priorité 1</b> Passages de CQI réguliers ou équivalents, ou bien échantillons patients de résultats connus (positifs et négatifs), ou bien passage d'échantillons en parallèle avec la technique du LBM partenaire pour s'assurer de l'absence de sensibilité à l'environnement</p> <p><b>Priorité 2</b> Historique d'utilisation de l'appareil - autre marquage disponible. A réaliser <i>a posteriori</i> : <b>si historique impossible à effectuer avant la mise en production des analyses, surveillance possible par le passage régulier d'échantillons en parallèle avec la technique du LBM partenaire</b> »</p> <p><b>Priorité 3</b> Enregistrement ou surveillance de la température des enceintes thermiques</p>
	Non contamination des échantillons	Cf. chapitre MRG
		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Prévoir une procédure de décontamination des déchets en fonction du risque de contamination biologique</li> <li>- Réviser la procédure d'élimination des déchets médicaux avec contrat d'intervention de la société extérieure si le LR n'en possède pas.</li> <li>- Le LBM s'assure que le traitement des échantillons, y compris leur élimination, respecte la réglementation, notamment celle des DASRI. Les modalités sont à préciser dans une annexe à la convention qui lie le LBM au LR.</li> <li>-</li> <li>- Qualité de l'eau si utilisée</li> </ul>
	Sécurité du personnel et de l'environnement (compatibilité avec les procédures opérationnelles du laboratoire). Par exemple, manipulation, inactivation, stockage.	- <b>Priorité 1</b> Adéquation de la documentation laboratoire avec les recommandations de bonnes pratiques

» : si le laboratoire adresseur ne pratique pas une méthode RT-PCR SARS-CoV-2, il mettra en place une stratégie de confirmation à intervalles réguliers avec son laboratoire médical de référence (CNR, CHU, laboratoire spécialisé, autre) pour des résultats remarquables, par exemple pour des cas de résultat différent du résultat attendu (résultat négatif malgré la présence de signes cliniques ou paracliniques).

5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise et documentation
Matériel (équipements)	Documentation fournisseur disponible pour la formation, l'utilisation et l'entretien des équipements	<b>Priorité 3</b> Présence ou rédaction de documents internes aux laboratoires permettant d'assurer cette documentation (formation, utilisation, performances, etc.)
	Documentation fournisseur sur l'évaluation des performances (résultats des études menées) Caractéristiques des performances analytiques	
	Etiquetage du dispositif (identification, principales fonctions, consigne d'hygiène et de sécurité : caractères et langues compréhensibles par les utilisateurs)	
	Performances des automates	<i>Cf. chapitre MRG**</i>  Vérification à chaque fois que nécessaire de la qualité des courbes d'amplification  <b>Si évaluation impossible à conduire dans le temps imparti avant le début de production des analyses, surveillance par le passage d'échantillons en parallèle avec la méthode du LBM partenaire et par le suivi régulier des CIQ ou équivalent. Ces données de contrôles sont accessibles au LBM<math>\alpha</math>, puis réalisation a posteriori</b> <i>cf « évaluation des performances »</i>
	Performance des équipements semi automatisés (Thermocycleurs et extracteurs)	<i>Cf. chapitre MRG**</i> Dans ce cas l'évaluation des performances est associée à un suivi métrologique cf infra. <b>NB : si impossible à réaliser dans le temps imparti avant la mise en production de l'analyse, le passage régulier d'échantillons en parallèle avec la technique du LBM partenaire LBM permettra de s'assurer d'une maîtrise globale du processus analytique et de son maintien au cours du temps.</b> <b>Note : pour cette approche utiliser des échantillons caractérisés : biologiquement, cliniquement, et radiologiquement. On modulera le nombre de comparaisons.</b>
	Capacité de l'automate	<i>Cf. chapitre MRG</i>
	Accès aux automates et interventions	
Versions du logiciel embarqué		
Performance des PSM de type II		

<p>Maîtrise des autres équipements :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• micropipettes</li> <li>• bains-marie secs</li> <li>• centrifugeuses</li> <li>• enceintes thermiques</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Contrats de maintenance</li> <li>• Vérification métrologique, si service de métrologie interne compétent dans le domaine de la biologie moléculaire, ou sous-traité.</li> <li>• Maintenances périodiques (si service assuré en période de crise sanitaire)</li> <li>• Modalités de gestion des équipements : Dispositions conformes aux exigences normatives Ces équipements ne sont pas à considérer comme critiques en PCR qualitative sauf cas particuliers (si points critiques particuliers identifiés lors de l'analyse de risques du LBM)</li> <li>• CIQ utilisé incluant la phase d'extraction, si disponible</li> </ul> <p><b>NB : si impossible à conduire dans le temps imparti avant mise en production de l'analyse, le passage régulier d'échantillons en parallèle avec la méthode du LBM partenaire permettra de s'assurer d'une maîtrise globale du processus analytique et de son maintien au cours du temps».</b></p>
<p>Traçabilité métrologique du dispositif (par exemple qualification des thermocycleurs avec sondes de température raccordées métrologiquement, vérification de la volumétrie des pipeteurs)</p> <p>NB : ce point critique est à maîtriser que l'appareillage soit marqué CE-IVD ou non</p>	<p><b>Priorité 3</b> Raccordement déjà réalisé si l'appareil est utilisé pour une technique accréditée selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 Ce moyen de maîtrise peut être mise en œuvre <i>a posteriori</i> <b>Si impossible à effectuer dans le temps imparti avant la mise en production de l'analyse, surveillance possible par le passage d'échantillons positifs en parallèle avec la méthode du LBM partenaire pour démontrer l'absence d'impact sur les résultats »</b> <b>NB : approche possible si et seulement si le LBM et le LR utilisent les mêmes réactifs et même matériels</b></p>
<p>Durée de vie, fréquence de l'entretien nécessaire, nature des opérations à effectuer</p>	<p><b>Priorité 3</b> Présence ou rédaction de documents internes aux laboratoires permettant d'assurer cette documentation</p>
<p>Modalité d'information en absence de vigilance sanitaire ascendante et descendante liée à la réactio- et matériovigilance des matériels</p>	<p><b>Priorité 2</b> A définir dans les annexes de la convention (déclaration d'événement indésirable grave remontant dans le SMQ du LBM)</p>

	<p>Compatibilité avec les dispositifs de prélèvement et les milieux de transport et les types d'échantillons à utiliser</p> <p>Exigences associées (par exemple stérilité)</p>	<p><b>Priorité 3</b> En l'absence de données, seules les conditions testées lors de l'évaluation de l'automate sont validées.</p> <p>NB : des conditions dégradées (liées à un défaut d'approvisionnement par exemple) imposent une vérification <i>a minima</i>.</p>
	Contamination	<p>Respect des conditions opératoires du fournisseur et évaluation du risque par :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- test de contamination lors de la vérification de méthode</li> <li>- en complément, un suivi des contrôles négatifs peut être utile</li> <li>- dispositions pour renforcer la confirmation de certains résultats positifs avec une méthode alternative (par exemple méthode du LBM partenaire)</li> <li>- suivi des non-conformités, suivi de la fréquence des tests indéterminés, contrôle de cohérence des résultats, etc.</li> <li>- analyse du principe de fonctionnement des automates (Analyse des méthodes de travail (unitaire ou en série))</li> <li>- ajout de contrôle négatif de la PCR et/ou de contrôle négatif depuis l'extraction</li> </ul>
	Performance et stérilité des consommables	Cf. chapitre MRG

5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise et documentation
<b>Méthode</b>	Choix du fournisseur réactifs, parfois imposé par la pénurie de réactifs	<b>Cf. arrêté relatif à la liste des réactifs autorisés (voir préambule)</b>
	Respect des procédures pré-analytiques, analytiques et post-analytiques définies par le laboratoire référent	<p><b>Sous la responsabilité du LBM</b></p> <p>Cf. chapitre MRG</p>
	Saisie des résultats dans l'informatique	
	Vérification de la conformité analytique	
	Transmission des résultats (techniciens, biologistes, secrétaires)	
	Validation biologique (incluant l'interprétation des résultats)	

Délai de transmission des résultats	Application de l'arrêté du 7 mars 2020 et confirmé par l'arrêté du 12 mai 2020
Possibilité de transmettre des résultats sans CIQ ou avec de CIQ hors spécification	<b>Priorité 1</b> mise en place de cartes de contrôle, etc.
Possibilité de modifier les données brutes. Traçabilité des modifications	<b>Priorité 1</b> En fonction d'une analyse de risques Documentation procédure du laboratoire de renfort
Expression des résultats en UI ou unité compréhensible par les opérateurs (CT, copie, etc.)	<b>Priorité 1</b> A définir dans les annexes de convention cf annexe 2 Mise en place d'un outil (formule sous tableau excel protégé par exemple)
Compatibilité et sécurité des connexions physiques avec les systèmes informatiques du laboratoire ou d'autres équipements utilisés en combinaison (extracteur, pipeteur)	<b>Priorité 1</b> Identitovigilance renforcée sur les points ne permettant pas une connexion
Compatibilité des formats avec les systèmes informatiques du laboratoire	<b>Priorité 1</b> Validation des connexions le cas échéant Cf. chapitre MRG
Intégrité des informations lors du stockage et des transferts	<b>Priorité 1</b> Validation dossiers tests Cf. chapitre MRG
Disponibilités des enregistrements techniques (format, lecture, durée de conservation, durée d'archivage)	<b>Priorité 3</b> Définir dans les annexes de la convention qui garde quoi, comment, et combien de temps
Traçabilité des opérateurs	<b>Priorité 2</b> Traçabilité interne (papier ou informatique) à mettre en place en l'absence de traçabilité réalisable sur l'appareil
Gestion des droits	<b>Priorité 2</b> A documenter d'après d'une analyse de risques dans la procédure du laboratoire de renfort

5M	Points critiques à maîtriser	Modalités de maîtrise et documentation
Main d'œuvre	Connaissances des modes opératoires et procédures utiles à la maîtrise du risque pré-analytique, analytique et post analytique	<b>Le LBM s'assure que les compétences du personnel du LR ont bien été évaluées et que ce personnel est habilité spécifiquement</b> <i>Cf. chapitre MRG</i>
	Compétence du personnel médical et non médical	
		Habilitation du personnel : procédures de qualification et de suivi des compétences du personnel médical et non médical (en relation avec la fonction concernée) incluant des notions spécifiques à la biologie moléculaire (« marche en avant », pièce blanche, etc.) <b>Le LBM s'assure que les compétences du personnel du LR ont bien été évaluées et que ce personnel est habilité spécifiquement</b>  <b>Quoiqu'il en soit, habilitation <i>a minima</i> par validation des acquis par l'expérience<sup>§</sup> pour le personnel maîtrisant le matériel et les types de réactifs utilisés et dans le respect de l'arrêté du 3 mai 2020 et après autorisation du représentant de l'état dans le département</b>

<sup>§</sup> expérience définie par le temps de présence en poste avec la réalisation de RT-PCR ou PCR et l'utilisation de l'automate au cours de l'année.

\*\* chapitre maîtrise des risques génériques (MRG) (Chapitre 12, Quamic 2ème édition, 2019, SFM, p111-118)

## 5. Evaluation des performances de la méthode

### 5.1. Répétabilité

Applicable  ou non applicable (à justifier)

La RT-PCR étant qualitative, une répétabilité ne se justifie pas forcément de façon initiale. Elle pourra être réalisée en cas de manque de reproductibilité mise en évidence lors des tests de fidélité intermédiaire, ou dans le cas de l'investigation d'un problème ponctuel de stabilité des résultats de contrôle, ou encore lors de la qualification d'un nouvel équipement (test d'acceptation). Dans ce dernier cas, un seul paramètre peut être testé et il est inutile de renouveler ces tests lors des ajouts de nouveaux paramètres.

Exemple de test réalisable : tester un échantillon positif sur une seule série avec au minimum 5 déterminations selon les possibilités et le coût. Cette étape inclut la

phase d'extraction et permet une évaluation globale de l'ensemble du processus analytique.

Les méthodes d'extraction « maison » représentent un cas particulier pour lequel une évaluation mettant l'accent sur cette phase permet de s'assurer que l'étape critique d'extraction est maîtrisée.

Valeurs acceptables : assimilables aux exigences de fidélité intermédiaire.

## 5.2. Fidélité intermédiaire

**Applicable**  ; non applicable

Bien que les RT-PCR soient qualitatives, il est conseillé de déterminer la fidélité intermédiaire en testant un échantillon positif (un contrôle de qualité de niveau bas idéalement) dans diverses conditions de reproductibilité, sur au moins 5 jours. Cela pourra s'envisager si la valeur du CT (*cycle threshold* – seuil en cycles de PCR) est accessible, ce qui n'est pas le cas de toutes les trousse commerciales.

A titre d'exemple, les bornes d'acceptabilité du contrôle recommandées seraient : moyenne du CT +/- 2 ET (écarts-types) c'est-à-dire moyenne du CT  $\pm$  2 ET (Ct). Ces tolérances seront bien entendu adaptées en fonction du type de méthode, de l'impact clinique, et de l'expérience acquise sur le long terme. Il est acceptable de suivre uniquement la borne supérieure (pas d'impact si contrôle avec un CT trop faible) ou les bornes du fournisseur.

Pour assurer une évaluation inter-lot de la fidélité intermédiaire, la mise en œuvre de CIQ peut être nécessaire. La disponibilité de matériaux de contrôle étant très limitée, les laboratoires peuvent s'orienter vers l'utilisation de matériel biologique conservé et inactivé (5 min à 70 °C) pour disposer en quantité suffisante d'un échantillon proche des limites de détection. La stabilité des matériaux de contrôles reste un facteur limitant à leur utilisation.

## 5.3. Variabilité inter-opérateurs

Applicable  **ou** non applicable (à justifier)

Non justifié sur méthodes automatisées à lecture objective type PCR en temps réel. Pour les autres techniques, cela est pris en compte par la formation du personnel (*cf.* maîtrise des risques).

## 5.4. Justesse

Applicable  ; **non applicable (à justifier)**

Les analyses qualitatives ne nécessitent pas une évaluation de la justesse

## 5.5. Exactitude

**Applicable**  ; non applicable

Des EEQ destinées au laboratoire de biologie humaine existent ou seront disponibles prochainement pour la recherche du SARS-CoV-2. Ils pourront être répertoriés dans un tableau reprenant l'ensemble des résultats.

Dans l'attente de la disponibilité de ces EEQ, prévoir à intervalles réguliers le passage d'échantillons en parallèle avec la technique du LR et celle du LBM partenaire.

## 5.6. Sensibilité et spécificité analytique

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐ Se référer aux **données fournisseurs et bibliographiques**.

Dans certains cas, un essai peut être envisagé ; se référer alors à la limite de détection et à la comparaison de méthode.

## 5.7. Incertitude de mesure

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐

Se référer à l'analyse de risques.

## 5.8. Etendue de mesure/limite de détection

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐

Elle peut ne pas nécessiter d'essai (portée A) : se référer alors à la **bibliographie** de l'analyse, aux données fournisseurs et à l'analyse de risques.

Cependant, une approche de la limite de détection peut avantageusement compléter l'analyse bibliographique. Elle peut être mise en œuvre via les EEQ (si disponible) ou l'utilisation des échantillons de référence, si des échantillons de titres faibles sont proposés. Cette évaluation complémentaire peut être réalisée *a posteriori* si les conditions ne permettent pas de conduire l'étude dans les temps impartis à la mise en production (contexte d'urgence).

## 5.9. Comparaison de méthodes

**Applicable** \*☒ ; non applicable ☐

- Méthode précédente du laboratoire adresseur ou changement de méthode du laboratoire effecteur : sauf si le changement de méthode est en lien avec une rupture de livraison par le fournisseur (par exemple, suite à une préemption de réactifs par des états).
- Nombre de mesures pour la comparaison : à définir, pouvant différer selon la phase étudiée (extraction ou amplification).
  - En cas de changement de kit d'extraction d'ARN, dans la mesure du possible, le laboratoire passera *a minima* 5 échantillons par matrice d'extraction et comparera les valeurs des CT obtenues pour le contrôle interne d'extraction et, dans la mesure du possible, pour des échantillons positifs en SARS-CoV-2 – sauf si le laboratoire a déjà prouvé l'absence d'impact du changement de méthode de l'extraction
  - En cas de comparaison de méthodes d'amplification, le LBM sélectionnera des échantillons positifs et des échantillons négatifs. Tester au total un minimum 10 échantillons, sauf exception.
- Descriptif des échantillons étudiés : ARN connus, positifs (en incrémentant si possible des échantillons proches du seuil de détection (CT élevés)) ou négatifs avec l'ancienne méthode. Si possible, utiliser des échantillons congelés ou des échantillons de contrôle afin de tester l'étape d'extraction et les différentes matrices.
- Méthode d'exploitation des résultats (étude des concordances) : les résultats sont comparés avec ceux de la nouvelle méthode. Etude des discordances éventuelles et justification.
- Conclusion : à adapter aux résultats de l'essai sur site (concordance et praticabilité améliorées, par exemple).

☒ : si le laboratoire adresseur ne pratique pas une méthode RT-PCR SARS-CoV-2, il mettra en place une stratégie de confirmation à intervalles réguliers avec son laboratoire médical de référence (CNR, CHU, laboratoire spécialisé, autre) pour des résultats remarquables, par exemple pour des cas de résultat différent du résultat attendu (résultat négatif malgré la présence de signes cliniques ou paracliniques).

#### 5.10. Interférences

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐ **Bibliographie et analyse de risques** selon les préconisations éventuelles du fournisseur.

#### 5.11. Contamination

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐ **Cf Maîtrise des risques**

Procédure valable pour toutes les amplifications géniques réalisées dans les mêmes conditions (sur le même automate par exemple).

A l'exception des automates utilisant des cartouches unitaires incluant toutes les étapes de la PCR de l'extraction au résultat final, une vérification de la non contamination sera réalisée. Par exemple, extraire en alternance au minimum 6 échantillons, positifs forts et négatifs (eau ou milieu de transport de qualité biologie moléculaire), et réaliser la PCR choisie.

Exigence : les résultats doivent montrer l'absence de contamination inter échantillons.

#### 5.12. Robustesse et stabilité des réactifs

**Applicable** ☒ ; non applicable ☐ **Cf Maîtrise des risques**

Argumentaire : la robustesse et la stabilité des consommables et réactifs est objectivée par l'analyse de risques (consommables à usage unique, respect des péremptions et températures de stockage contrôlées, conditions de transport).

NB : si impossible à évaluer dans le temps imparti avant la mise en production de l'analyse, prévoir de passer à intervalles réguliers des échantillons en parallèle avec la technique LBM et celle du LR.

#### 5.13. Intervalles de référence

Applicable ☐ ; **non applicable (à justifier)** ☒ Méthode qualitative.

### 6. A ne pas oublier

L'organisation des locaux (pièces blanches, « marche en avant », etc.) et la formation du personnel à ce sujet est un critère important à maîtriser.

### 7. Propositions d'indicateurs

**Prévoir des comparaisons de techniques LBM versus LR à intervalles réguliers**

## Bibliographie

Quamic 2<sup>ème</sup> édition. Qualité en microbiologie médicale, Société Française de Microbiologie Ed, 2019.

Remic, Référentiel en Microbiologie médicale, 6<sup>ème</sup> édition. Société française de Microbiologie Ed, 2018.

Documents Cofrac SH GTA 04, Révision 01 « Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes en biologie médicale ». Disponible sur [www.cofrac.fr](http://www.cofrac.fr).

Raymaekers M *et al.* Reflexion and proposals to assure quality in molecular diagnostics. Acta Clinica Belgica. 2011. 66 : 33-41. Bibliographie propre à l'échantillon biologique étudié si besoin.

CHIN alex WH Stability of SARS -CoV2 in different environmental conditions, the lancet.com April2 2020.

Arrêté du 7 mars 2020 portant modification de la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale (inscription de la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT PCR)

Arrêté du 14 avril 2020 complétant l'arrêté du 23 mars 2020 prescrivant les mesures d'organisation et de fonctionnement du système de santé nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire NOR :

Arrêté du 3 mai 2020 complétant l'arrêté du 23 mars 2020 prescrivant les mesures d'organisation et de fonctionnement du système de santé nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire

Décret n° 2020-545 du 11 mai 2020 prescrivant les mesures générales nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire

Arrêté du 12 mai 2020 portant modification de la liste des actes et prestations mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale (inscription de la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT PCR)