



Fiche : Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé d'infection par le virus monkeypox (MPV) Version 4 - mise à jour : 28/08/2024

Recommandations de la SFM à destination des Laboratoires des Etablissements de Santé et des Hôpitaux militaires ainsi que des Laboratoires de Biologie Médicale.

Rédacteurs (Groupe de travail SFM « Micro-organismes émergents », Section Virologie SFM et Section SFM Sécurité et sûreté biologiques ; CNR Orthopoxvirus) : Maude Bouscambert, Sonia Burrel, Olivier Ferraris, Nadine Lemaitre, Sébastien Allix, Audrey Merens, Bruno Lina, Alexandre Gaymard, Gérard Lina, Vincent Thibault, David Boutolleau, Céline Bressollette-Bodin, Sylvie Larrat

1/ Généralités

Le virus monkeypox (MPV) est un virus de la famille des *Poxviridae* qui se compose de 2 sous-familles, les *Entomopoxvirinae* et les *Chordopoxvirinae*. Les *Chordopoxvirinae* sont divisés en plusieurs genres auxquels s'ajoutent les virus en attente de classement. Les *Chordopoxvirinae* peuvent infecter un très grand nombre de vertébrés. Des infections chez l'être humain ont été rapportées pour 5 genres, dont principalement les genres *Molluscipoxvirus*, *Yatapoxvirus*, *Parapoxvirus* et *Orthopoxvirus*. Les orthopoxvirus sont connus pour causer des zoonoses humaines à partir de contacts avec des mammifères infectés. Depuis mai 2022, l'exposition au MPV de clade 2 par contact direct avec les lésions cutanées, en particulier lors de rapports sexuels a permis une forte augmentation de la transmission interhumaine. **Depuis septembre 2023, un nouveau variant du clade 1, nommé clade 1b, responsable d'une épidémie en République Démocratique du Congo, co-circule avec le clade 1a.** La transmissibilité du clade I est associée aux contacts sexuels comme non sexuels. Les orthopoxvirus sont sensibles aux désinfectants usuels tel que l'hypochlorite de sodium 0,5% (une liste d'agents actifs est disponible sur le site <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/virus-variole.html>).

La virémie lors de l'infection par le MPV est généralement courte (1 à 2 jours) et concomitante de la fin de la phase prodromique. La fièvre dure pendant 1 à 3 jours, puis l'éruption cutanée ou rash apparaît. La phase éruptive débute par un exanthème (visage et bras) qui gagne en une seule poussée centrifuge le tronc et les membres inférieurs. Les lésions évoluent du stade de macules, vers celui de papules, puis de vésicules, pustules et croûtes simultanément sur un même territoire, à l'inverse de la varicelle, (diagnostic différentiel essentiel de l'infection par le MPV, dont l'éruption évolue en plusieurs poussées) et sont très enchâssées dans le derme. Les cas récents indiquent que des éruptions localisées ne retrouvant que quelques vésicules sont également possibles. L'individu est contagieux jusqu'au moment où les croûtes tombent.

L'ensemble des recommandations émises par la SFM et le CNR Orthopoxvirus indiquées ci-dessous peuvent être amenées à évoluer au fur et à mesures de l'évolution de l'épidémie et des modifications réglementaires.



2/ Prélèvements recommandés pour le diagnostic virologique de l'infection par le MPV

Le diagnostic spécifique de l'infection par le MPV est réalisé actuellement par PCR de genre (genre *Orthopoxvirus*) puis confirmation MPV ou directement par PCR spécifique MPV. Pour différencier les clades, des PCR peuvent être mises en œuvre, une permettant de discriminer clade 1a, clade 1b et clade 2 et une permettant une confirmation clade 1b (Schuele *et al.*, Eurosurveillance, 2024 ; CNR OPX IRBA). La culture cellulaire ne doit pas être utilisée en première intention diagnostique.

Les prélèvements recommandés pour le diagnostic virologique initial de l'infection par le MPV initial sont les prélèvements cutanéomuqueux des lésions par écouvillonnages et/ou prélèvement de biopsies de lésions cutanées au niveau des muqueuses.

Un prélèvement par écouvillonnage d'une ou plusieurs vésicules ou lésions (ulcérations) est possible pour augmenter le rendement diagnostique. L'écouvillon doit ensuite être déchargé dans un milieu de transport viral, idéalement non inactivant. La biopsie peut être conditionnée dans un tube sec ou dans un tube contenant du milieu de transport viral, idéalement non inactivant.

Les échantillons sanguins, de salive, urinaires, de fèces sont moins indiqués en première intention et présentent souvent une charge virale beaucoup plus faible que dans les échantillons cutanés. Les échantillons respiratoire et cérébrospinaux doivent uniquement être réalisés dans le contexte d'une évolution particulière de la maladie.

Pour plus d'informations concernant les prélèvements à des fins de diagnostic virologique initial d'infection se référer aux recommandations du CNR Orthopoxvirus :

<https://irba.sante.defense.gouv.fr/cnr/#orthopoxvirus>

Remarques : pour faciliter la mise en culture virale des échantillons par le CNR des Orthopoxvirus, il est préférable de ne pas réaliser d'inactivation par la chaleur ou de mise en tampon inactivant des échantillons initiaux.

3/ Classification des prélèvements selon le risque de contamination pour le manipulateur

Les prélèvements considérés à **risque significatif de contamination** d'un patient suspect ou confirmé d'infection par le MPV sont les suivants : prélèvements cutanéomuqueux, liquides biologiques tels que salive, sperme, sécrétions vaginales, prélèvements de la sphère ORL, et prélèvements respiratoires semi-profonds et profonds.

Les prélèvements considérés à **risque faible de contamination** d'un patient suspect ou confirmé d'infection par le MPV sont les suivants : sang, sérum, urines, LCS, liquides de séreuses (sauf liquides pleuraux).



4/ Conditionnement et acheminement des échantillons

Les conditionnements recommandés et les règles pour l'acheminement de matériels infectieux provenant d'un patient suspect ou confirmé d'infection par le MPV sont détaillés ci-dessous.

- **Acheminement des échantillons primaires provenant de cas suspects** à des fins de diagnostic virologique ou hors diagnostic virologique

En inter-sites (entre deux structures distinctes géographiquement)

- Si prélèvements à risque significatif de contamination
→ Triple emballage cartonné
- Si prélèvements à risque faible de contamination
→ Sachet 95 kPa

En intra-site (entre deux structures situées sur le même site géographique)

- Si prélèvements à risque significatif de contamination
→ Sachet 95 kPa
- Si prélèvements à risque faible de contamination
→ Sachet et modalités classiques de transfert d'échantillons biologiques. En cas d'envois combinés avec des prélèvements à risque significatif de contamination, il est possible de mettre tous les échantillons dans un sachet 95 kPa.

Pour les prélèvements destinés au diagnostic, l'acheminement vers le laboratoire doit se faire selon les recommandations d'un transport UN3373 (**catégorie B numéro UN3373**, « Substance biologique de catégorie B », instruction d'emballage P650) en triple emballage ou conditionné dans un sachet 95 kPa contenant un buvard selon le contexte. Le transport par pneumatique n'est pas recommandé dans l'état actuel de l'épidémie.

Attention au risque associé aux contenants mal fermés et à la fuite de liquide contaminé dans le sachet. Ce risque est très faible pour les écouvillons. **En cas de fuite de l'échantillon dans le sachet, l'analyse du prélèvement ne doit pas être réalisée.** Il est donc indispensable de rappeler au service expéditeur la nécessité de bien fermer les contenants, et de mettre systématiquement un absorbant dans le sachet de transport.

- **Acheminement et conditionnement des échantillons provenant de cas confirmés virologiquement pour envoi au CNR :**

- Echantillons primaires **non inactivés** (potentiellement infectieux) ou de **culture virale**
 - **Catégorie A numéro UN2814**, « Substance infectieuse affectant l'être humain », instruction d'emballage P620 avec un container rigide (emballage secondaire) placé pour le transport dans une boîte en carton. Une personne-contact d'urgence disponible 24h/24 doit être indiquée sur l'emballage en plus du nom de l'expéditeur et du destinataire. Tout envoi en catégorie A doit être accompagné d'un document de transport des marchandises dangereuses. Il convient de suivre la réglementation en vigueur pour tout envoi.



- Echantillons primaires **inactivés** ou **extraits d'acides nucléiques** (non infectieux)
 - **Catégorie B numéro UN3373**, « Substance biologique de catégorie B », instruction d'emballage P650.

Attention : le laboratoire expéditeur ne disposant pas d'une autorisation de détention du MPV (considéré comme un MOT) par l'ANSM a **30 jours** pour envoyer tous les échantillons cliniques positifs (inactivés ou non) et tous les extraits d'acides nucléiques au CNR Orthopoxvirus. **Au-delà, l'établissement a l'obligation de détruire les dits échantillons et extraits d'acides nucléiques purifiés contenant de l'ADN viral du MPV à partir d'échantillons cliniques et de tracer cette destruction** (Article R5139-2 du code de santé publique). Tout envoi de MOT doit faire l'objet d'une déclaration spécifique et d'obtenir une **autorisation de transport à l'ANSM** (<https://ansm.sante.fr/>).

Les échantillons sont conservés à 5°C (+/- 3°C) pendant 7 jours, au-delà, une température de conservation < -20°C est préférable. Le transport peut être effectué à 5°C (+/- 3°C) (durée de transport < 36h). **Tous les échantillons dont l'infection par le MPV est confirmée doivent être transférés au CNR** pour la détermination du clade du virus et son séquençage. Pour rappel, l'infection par le MPV est une maladie à **déclaration obligatoire** et doit être rapportée selon les modalités en vigueur à SpF.

5/ Manipulation des échantillons primaires à des fins de diagnostics biologiques

5.1. Manipulations des échantillons à risque significatif de contamination à des fins d'analyses biologiques (diagnostic virologique et autres analyses non virologiques)

Selon les recommandations du HCSP et la réglementation en vigueur, la manipulation des échantillons à visée diagnostique d'un patient suspect d'infection par le MPV doit s'effectuer en priorité dans un LSB3 sous un PSM2 en respectant les bonnes pratiques de travail. Ceci s'applique 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) en particulier avant l'inactivation du virus (mise en tampon de lyse pour l'extraction des acides nucléiques ...) et selon les conditions décrites dans le paragraphe 5.2.1.7 du manuel de sécurité et de sûreté biologiques.

Le MPV reste un agent biologique de niveau 3. La mise en culture des prélèvements cliniques ou la culture virale doit impérativement s'effectuer en LSB3 par **les laboratoires détenteurs d'autorisations de détention et de mise en œuvre délivrée par l'ANSM**. Les orthopoxvirus, le virus de la variole (VARV) et le MPV appartiennent tous deux à l'Annexe 1 de la liste des MOT.

Rappel des modes de transmission et stabilité du virus :

- De personne à personne : par contact direct avec des lésions cutanées, des croûtes, muqueuses (bouche, gorge, organes génitaux, zone anale).



- Par contact indirect *via* une transmission dite « gouttelettes » (notion de proximité, de temps d'exposition, d'absence d'aération).
- Par contact sur des vecteurs passifs infectées, comme des tissus, ou des objets : la durée de stabilité du virus sur une surface inerte varie de 15 à 35 jours en fonction de la température et de l'humidité.

NB : à ce jour, la transmission par aérosol (microgouttelettes et distance) n'est pas confirmée.

Pour la prise en charge des échantillons il convient de limiter le risque de contact avec la peau du manipulateur et limiter le risque de production d'aérosol. Le port d'EPI reste un prérequis indispensable (gants, lunettes et blouse couvrante) ; la présence de microlésions pouvant être suffisante pour favoriser une infection cutanée. Le risque d'infection par voie respiratoire est présent uniquement lors de la production d'aérosols, le port du masque est obligatoire dans ce cas.

Conformément à l'article 3 de l'arrêté du 16/07/2007 et pour les seules analyses de biologiques médicale, le NSB2 est possible uniquement pour la réalisation de tests de diagnostic moléculaire sur tous les types d'échantillons cliniques **en respectant les mêmes pratiques de travail que dans un LSB3** (PSM2 dédié et identifié, port de surblouse, masque, gants à usage unique, autoclavage des déchets ...) et selon une évaluation des risques à faire selon la nature des prélèvements (risque de contamination) et contexte clinique du patient.

Il est recommandé de décontaminer les contenants à l'arrivée au laboratoire. Il y a le plus souvent une première décontamination faite par le service préleveur. Il est impératif de sensibiliser les services de soins à la bonne décontamination des contenants avant le départ du service.

Dans l'idéal, il convient d'attendre la levée de doute de l'infection par MPV avant d'effectuer toute autre analyse biologique sur des **échantillons à risque significatif de contamination**. En cas de suspicion d'une co-infection sans possibilité de réaliser d'examens complémentaires, il pourra être discuté avec les infectiologues de mettre en place un traitement probabiliste.

Les procédures doivent notamment respecter les conditions de sécurité biologique recommandées (ou obligatoires) pour réduire tout risque de dissémination en cas d'accident, comme listées ci-dessous :

- Port de gants jetables à usage unique. Le port de manchon de protection des avant-bras qui seront éliminés sous PSM2 en cas de manipulation dans un LSB2 peut être proposé en plus. Il faut également associer une sur-blouse, un masque FFP2 et une paire de lunettes de protection.
- Toute centrifugation doit se faire en nacelle étanche et toute ouverture de nacelle de centrifugation doit se faire sous PSM2 (*cf.* paragraphe 5.2.3 du manuel de sécurité et de sureté biologique SFM).



- Toute homogénéisation par utilisation d'un vortex doit être évitée autant que faire se peut. Si indispensable, elle doit se faire sous PSM2 uniquement si le tube peut rester fermé.
- Le PSM2 doit être nettoyé 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.
- Procéder à une hygiène des mains avec PHA après retrait des gants.

En cas d'urgence médicale, **la manipulation des échantillons à risque significatif de contamination pour la réalisation d'analyses autres que des analyses de biologie moléculaire** doivent respecter les recommandations suivantes :

- Après décontamination des contenants, le tube échantillon peut passer sur un automate d'analyse qui ne nécessite pas d'ouverture du bouchon et qui possède une procédure de désinfection adéquate.
- S'il est nécessaire de faire un étalement et une coloration de l'échantillon biologique sur lame ou s'il est nécessaire d'ensemencer le prélèvement sur milieux de culture (bactériologiques/mycologiques), il convient de respecter une manipulation en condition LSB3 sous PSM2 ou en condition LSB2 avec les précautions de manipulation d'un LSB3. Une fois fixées, les lames peuvent être colorées en dehors du PSM2 et une fois les milieux ensemencés, ils peuvent réintégrer une chaîne robotisée pour lecture automatisée mais il est rappelé que le déchargement des boîtes de culture de la chaîne doit se faire en respectant les précautions standards (**port de gants**).

Remarque : lorsqu'il n'y a pas besoin de prétraitement ou de dilution de l'échantillon, l'ensemencement à visée bactériologique ou mycologique de milieux de culture et les dépôts sur lame et la fixation peuvent être aussi réalisés directement avec les ensemenceurs capables d'ouvrir les contenants fermés et possédant un **module d'ensemencement fermé avec traitement d'air par filtre HEPA**.

5.2. Réalisation des analyses biologiques sur des échantillons à risque faible de contamination (ex : sang, urines ...)

Les précautions standards de manipulation des échantillons biologiques doivent inclure le port de gants, le respect de l'hygiène des mains, un suivi de procédure adéquates de désinfection en cas de projection sur une surface et un suivi des règles de bon usage des centrifugeuses.

Les prélèvements seront traités selon les procédures standards du laboratoire (ensemencement manuel ou automatisé des prélèvements microbiologiques, coloration ...).



6/ Gestion des déchets et destruction des échantillons

En LSB3, les déchets générés par la prise en charge des prélèvements adressés pour une confirmation d'infection par le MPV suivent le mode usuel d'élimination des déchets mis en place dans le laboratoire comprenant obligatoirement **un pré-traitement par autoclavage** (*a minima* 30 minutes à 121°C recommandé) avant leur sortie définitive pour élimination par le circuit des DASRI.

En LSB2 +, la gestion des déchets produits dans la salle de travail dédiée doit suivre les recommandations suivantes :

1. Inactivation chimique des déchets produits sous PSM2.
2. Inactivation des effluents de lavages.
3. Elimination des déchets solides (y compris les EPI) en DASRI après décontamination chimique pour le matériel (les gants font partis du matériel à décontaminer) avant la sortie de la salle de travail dédiée.
4. Autoclavage des déchets solides et liquides dans un autoclave situé à proximité immédiate (même bâtiment), avec mise en place de procédures validées, permettant le transfert vers l'autoclave extérieur au local (ex : décontamination externe de la DASRI avant la sortie de la salle de travail dédiée).

La **réglementation en vigueur** (classement du MPV comme agent pathogène du groupe 3) impose un **autoclavage des déchets en LSB3 et LSB2 + (une inactivation chimique est éventuellement possible Eau de Javel 2° Chlorométrique 12h de contact)**. La réglementation de gestion des déchets concerne les échantillons initiaux MPV positif **ET** tous les acides nucléiques extraits des dits prélèvements inactivés par la chaleur avant analyse biologiques **OU** prélevés en milieux inactivant.

Si l'infection par le MPV est **exclue par biologie moléculaire** : les échantillons peuvent rejoindre le circuit classique de conservation des échantillons et d'évacuation du laboratoire par la filière DASRI standard.

Adresse du Centre National de Référence (CNR) des Orthopoxvirus :

CNR-LE Orthopoxvirus
Institut de Recherche Biomédicale des Armées
Unité de Virologie
1 place Valérie André
91 220 Brétigny sur Orge
Tél : 06 03 87 58 59
Courriel : Irba-cnropv.accueil.fct@def.gouv.fr
<https://irba.sante.defense.gouv.fr/cnr/#orthopoxvirus>



Références

- Manuel de sécurité et sûreté biologiques, 2^e édition, Ed. SFM, 2019.
- Laboratory testing for the monkeypox virus, WHO Interim guidance, 28 may 2022. www.who.int/health-topics/monkeypox
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th Edition, CDC. <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/lab-personnel/lab-procedures.html>
- Arrêté du 27 décembre 2017 relatif à la liste des agents biologiques pathogènes et aux mesures techniques de prévention à mettre en œuvre dans les laboratoires où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes.
- Manuel de sécurité biologique en laboratoire, OMS, 4^e édition. Laboratory biosafety manual: fourth edition. Geneva:World Health Organization; 2020 <https://apps.who.int/iris/handle/10665/337956>.
- Guide pratique sur l'application du règlement relatif au transport des matières infectieuses (2019-2020), WHO/HSE/GCR 2015.2.
- Schuele L, Masirika LM, Udahemuka JC, Siangoli FB, Mbiribindi JB, Ndishimye P, Aarestrup FM, Koopmans M, Oude Munnink BB, Molenkamp R; GREATLIFE MPOX group; Collaborators. Real-time PCR assay to detect the novel Clade Ib monkeypox virus, September 2023 to May 2024. Euro Surveill. 2024 Aug;29(32):2400486. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2024.29.32.2400486.

Abréviations

ANSM : Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé

CDC : Center for Disease Control and Prevention

CNR : Centre national de référence

DASRI : déchets d'activités de soins à risque infectieux

EPI : équipement de protection individuelle

FFP2 : masque filtrant de niveau 2

HCSP : Haut conseil de santé publique

HEPA : filtre à air à haute efficacité

IST : Infection sexuellement transmissible

LCS : liquide cébrospinal

LSB2 / 3 : Laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 / 3

MOT : Micro-organismes et toxines

ORL : oto-rhino-laryngologique

OMS / WHO : Organisation mondiale de la santé

PSM2 : Poste de sécurité microbiologique de niveau 2