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

Recommandations de la SFM à destination des laboratoires des Etablissements de Santé de Référence et des Hôpitaux militaires, 3 mars 2020.

Rédacteurs (Groupe de travail SFM « Micro-organismes émergents » et Section sûreté et sécurité microbiologiques) : Maude Bouscambert, Nadine Lemaitre, Sébastien Allix-Le Guen, Audrey Merens, Bruno Lina, Gérard Lina

Généralités

Le virus SARS-CoV2 (nouvelle dénomination du nCoV-2019) est un virus de la famille des coronavirus (Coronavirus humains agents du rhume banal / NL63, HUK1… ; SARS-CoV en 2003 ; MERS-CoV 2012). La transmission est de type gouttelette comme la grippe (maximum de contagiosité à ≤ 1 m). Sa durée de survie sur surfaces inertes est inconnue mais, le MERS-CoV, virus apparenté, peut survivre pendant 5 jours en particulier en atmosphère humide (taux d'humidité ≥ 50%) et à faible température.

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

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

Selon les recommandations de l'OMS, CDC et ECDC, la manipulation des échantillons microbiologiques d'un patient suspect de COVID-19 peut s'effectuer dans un LSB2 en respectant les bonnes pratiques de travail, particulièrement lors des manipulations pouvant générer accidentellement des aérosols, en mettant à

disposition une conduite à tenir en cas d'incident (traçabilité du personnel et des échantillons). Seule la culture du virus doit se faire impérativement dans un LSB3.

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

Ces recommandations sont amenées à évoluer au fur et à mesures que les connaissances s'affineront. Elles sont également susceptibles d'évoluer en fonction de l'épidémiologie.

Diagnostic et prélèvements

En France, le diagnostic spécifique de COVID-19 est réalisé actuellement par une RT-PCR spécifique sur un prélèvement naso-pharyngé (écouvillon ou aspiration) dont le résultat peut être obtenu généralement en 4 heures. Aucun test commercial n'est actuellement disponible mais le développement de ces protocoles spécifiques sur des automates de laboratoire sont en cours et seront diffusés dès que possible.

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

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

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

Il est recommandé que les prélèvements destinés à la recherche d'autres agents microbiologiques autres que le SARS-CoV2 ne soient pas envoyés aux laboratoires destinataires avant la levée de doute sur une infection COVID-19. Ils doivent être conservés dans le service à +5°C si possible. Toutefois, si ces analyses ne peuvent pas être différées (patients de réanimation par exemple), les échantillons pourront être envoyés aux laboratoires de Microbiologie en respectant les recommandations de conditionnement, d'acheminement et de prise en charge décrites ci-dessous.

Acheminement des prélèvements

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

1. Prélèvements pour le diagnostic microbiologique

Les prélèvements respiratoires cités ci-dessus sont adressés au laboratoire par un transport sécurisé adapté à l'organisation de l'établissement : soignant à pied sur site, transport inter-site ou un transporteur dédié (entre établissements). Le

conditionnement en triple emballage permet d'identifier les échantillons à risque COVID19 et de sécuriser le transport.

Pour des raisons de sécurité, ces échantillons ne doivent pas être acheminés par le pneumatique.

Le conditionnement recommandé : catégorie B (Norme UN 3373) / triple emballage notice d'instruction P650 :

- Prélèvement conditionné dans un sachet individuel 95 kPa avec un buvard (emballage secondaire). Pour le transport, les sachets individuels sont mis dans un plus grand sac 95 kPa (emballage tertiaire).
- Prélèvement conditionné dans un container rigide (emballage secondaire) placé pour le transport dans une boîte en carton (emballage tertiaire).

2. Autres prélèvements

Etant donné la virémie inconstante et très faible, les tubes de sang ne présentent pas de risque de contamination par voie respiratoire. Les tubes destinés aux disciplines non microbiologiques sont donc traités selon les procédures standards de manipulation d'échantillons biologiques potentiellement contaminés par des agents infectieux.

Les tubes de sang sont donc conditionnés dans un emballage standard et sont acheminés au laboratoire comme tout autre prélèvement de sang. Leur prise en charge ne doit pas être différente. Il n'est pas utile de les décontaminer au laboratoire (risque de retard de prise en charge et donc perte de chance pour le patient). Les mesures standards de manipulation des échantillons biologiques, le port de gants en particulier, suffisent pour protéger le manipulateur.

Réalisation des analyses microbiologiques

La manipulation des échantillons respiratoires et de selles doit se faire dans un laboratoire LSB2, sous PSM2, quelles que soient les activités réalisées (mise en tampon de lyse pour l'extraction des acides nucléiques, ensemencement à visée bactériologiques, cytologie des liquides type LBA…).

D'autres prélèvements à visée microbiologiques (urines, hémocultures) pourront être prescrits au décours de l'hospitalisation, uniquement en cas de nouveaux points d'appel cliniques infectieux. La mise en culture de ces prélèvements à visée bactériologique ou mycologique, les dépôts sur lame et la fixation des lames en vue d'un examen microscopique s'effectueront en LSB2 sous PSM2 (une fois fixées, les lames peuvent être colorées en dehors du PSM2). Les conditions de sécurité biologique sous PSM2 sont listées ci-dessous :

- Personnel en nombre limité dans la pièce du LSB2

- Tenue recommandée : port de gants manchettes ou sur-blouse pour protéger sa blouse des projections éventuelles sous le PSM2, port d'une 2ème paires de gants pour pouvoir en changer si projection.
- Toute centrifugation doit se faire obligatoirement en nacelle étanche et toute ouverture de nacelle de centrifugation doit se faire sous PSM2
- Tout vortexage doit se faire sous PSM2
- Le poste de sécurité microbiologique doit être nettoyé immédiatement après usage avec un détergent-désinfectant virucide (Norme EN 14476) en suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration et du temps de contact).
- Disposer d'une procédure décrivant la conduite à tenir en cas de déversement de liquides biologiques ou de projections sous le PSM2
- Procéder à une hygiène des mains avec PHA,
- Les prélèvements positifs sont adressés au CNR des virus respiratoires (adresses ci-dessous) en respectant les procédures d'acheminement des prélèvements décrites ci-dessus (conditionnement de catégorie B UN 3373).

Gestion des déchets

Les déchets générés par la prise en charge des prélèvements respiratoires et de selles positifs sous PMS 2 dédié seront éliminés après un autoclavage (30 min à 121°C) ou à défaut mis dans un container DASRI rigide rempli avec un volume (2 cm de hauteur) de Javel 0,5% ou tout autre désinfectant actif contre le COVID-19 avant de rejoindre le circuit classique des DASRI.

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

Adresse des Centres Nationaux de références des virus respiratoires :

France SUD
Centre National de Référence virus des infections respiratoires (dont la grippe)
Institut des Agents Infectieux
Hôpital de la Croix Rousse, Bâtiment O / Centre de Biologie et de Pathologie Nord
103, Grande-Rue de la Croix-Rousse 69004 Lyon
Secrétariat IAI : 04 72 07 11 11

France NORD
Centre National de Référence virus des infections respiratoires (dont la grippe)
Institut Pasteur 25-28 rue du Docteur Roux 75724 Paris Cedex 15 France

Secrétariat du CNR : +33(0)1 45 68 87 25

Références

- Dépistage en laboratoire des cas suspects d'infection humaine par le nouveau coronavirus 2019 (2019-nCoV). Lignes directoires provisoires du 17 Janvier 2020. WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.3

- Manuel de sécurité et sûreté biologiques, 2ième édition, Société Française de Microbiologie (2019)

- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th Edition, CDC.

- Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons under investigation (PUIs) for 2019 novel coronavirus (2019-CoV), CDC 2019. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html

- Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratorysyndrome 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, 3ème édition. www.emro.who.int/fr/health-topics/biosafety

- Guide pratique sur l'application du règlement relatif au transport des matières infectieuses (2015-2016), WHO/HSE/GCR 2015.2.

- Chloé Geller, Mihayl Varbanov and Raphaël E. Duval. 2012. Human Coronaviruses: Insights into Environmental Resistance and Its Influence on the Development of New Antiseptic Strategies. *Viruses* 2012, *4*, 3044-3068; doi:10.3390/v4113044