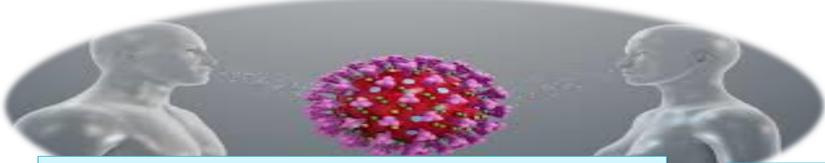


Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de COVID-19

FRIHA Samira, GUERRI Ramdhane, BELAALOUI Ghania

samira.friha@gmail.com



INTRODUCTION ET GÉNÉRALITÉS

Le virus SARS-CoV2 (nCoV-2019) est un virus de la famille des coronavirus. La transmission est de type gouttelette comme la grippe (maximum de contagiosité à ≤ 1 m). Sa durée de survie sur surfaces inertes est de quelques jours en particulier en atmosphère humide et à faible température.

La quantité de virus excrété 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. Les précautions standards de manipulation des agents infectieux au laboratoire sont suffisantes. Les coronavirus sont sensibles aux désinfectants usuels virucides (hypochlorite de sodium 0,5%, acide peracétique/peroxyde d'hydrogène, éthanol ou l'isopropanol à 70%, glutaraldéhyde, s'ils sont utilisés suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration et du temps de contact). Ces éléments permettent d'évaluer le risque associé à la manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir du SARS-CoV2 (prélèvements respiratoires et selles) pour le diagnostic d'infection COVID-19 ou 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 mesure que les connaissances s'affineront. Elles sont également susceptibles d'évoluer en fonction de l'épidémiologie.

MODES DE TRANSMISSION

Transmission de la COVID-19 principalement lors de contacts rapprochés

Transmission interhumaine à SARS-CoV-2 se fait par :

o La projection de gouttelettes

o Un contact direct

o L'intermédiaire de surfaces souillées

o Aérosol possible lors de soins exposants

Le virus persiste jusqu'à 3 heures sur des surfaces inertes sèches et jusqu'à 6 jours en milieu aqueux



Contacts entre personnes : niveaux de risque

EXPOSITION À RISQUE ÉLEVÉ



- Personne vivant sous le même toit qu'un cas confirmé;
- Partenaire intime avec cas confirmé;
- Personne prodiguant des soins corporels dans un cadre non médical à un cas confirmé;
- Personne ayant eu un contact direct avec des liquides biologiques infectieux.

EXPOSITION À RISQUE MODÉRÉ



- Personne ayant eu un contact prolongé à moins de 2 mètres, avec un cas confirmé qui n'aurait pas les mesures recommandées d'isolement ou que le contact n'aurait pas les mesures de protection requises (au moins 15 minutes cumulatives ou continues, ou selon l'évaluation du risque);
- Ceci inclut les expositions ayant eu lieu à bord des moyens de transport public lorsque les contacts sont identifiables.

EXPOSITION À RISQUE FAIBLE



- Personne n'ayant eu aucun contact significatif répondant à la définition d'exposition à risque modéré ou élevé.

Votre gouvernement Québec

PRÉLÈVEMENTS POUR DIAGNOSTIC

le diagnostic spécifique de COVID-19 est réalisé actuellement par RTPCR spécifique sur un prélèvement naso-pharyngé (écouvillon ou aspiration). Des tests commerciaux sont en cours d'évaluation et de distribution (liste DGS en cours). 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 autres écouvillons équivalents, aspirations),
- Un prélèvement des voies respiratoires basses (crachats, liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), aspiration trachéo-bronchique 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 des analyses non urgentes de cytologie ou de biochimie réalisées sur des prélèvements respiratoires ou prélèvements de selles ainsi que les analyses d'anatomo-cytologie non urgentes ou 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.

ACHEMINEMENT DES PRÉLÈVEMENTS

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). Prévenir le laboratoire de l'acheminement de prélèvements pour le diagnostic de SARS-CoV2.

1- Prélèvements à risque élevé de contamination

-Prélèvements respiratoires type crachats, aspirations bronchiques, prélèvements distaux protégés, liquides broncho-alvéolaires, liquides pleuraux, écouvillon rhinopharyngé pour la recherche du SARS-CoV2

-- Selles

-- Pour ces prélèvements, dans la mesure du possible, privilégier le transport par voie pédestre. Le pneumatique est à éviter en raison du risque de déversement des pots à vis. En revanche, ce risque de déversement est très faible pour les écouvillons.

-- Le triple emballage est recommandé rigide ou à défaut, un double emballage souple avec du papier absorbant, en particulier pour les prélèvements en pot à vis. En stade 3 de l'épidémie, un emballage simple (type prélèvement pour diagnostique de la grippe) peut être envisagé au cas par cas pour ne pas freiner la prise en charge des patients.

-- En cas de fuite de l'échantillon dans le sachet, l'analyse du prélèvement ne doit pas être réalisée. - Il est indispensable de rappeler au service la nécessité de bien fermer les contenants. Le risque de dissémination est associé à l'ouverture accidentelle d'un tube mal fermé. Un poudrier déversé dans son sachet ne sera pas traité par le personnel technique.

2- Prélèvement sans ou à faible risque de contamination

-- Sang (hémoculture, tubes de sang pour la biochimie, l'hématologie...), urines, liquides de séreuse (hors liquide pleural), écouvillons rectaux de dépistage des BMR (très faible quantité de selles).

-- Acheminement et emballage selon la filière standard des échantillons biologiques de l'établissement.

-Il n'est pas utile de décontaminer les contenants à l'arrivée 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 AU LABORATOIRE

1-Prélèvement à risque élevé de contamination

-La manipulation des échantillons respiratoires et de selles nécessitant une ouverture manuelle des contenants 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 bactériologique ou mycologique, les dépôts sur lame et la fixation des lames en vue d'un examen microscopique, cytologie des liquides type LBA...)

-- Les conditions de sécurité biologique recommandées (ou obligatoires) pour réduire tout risque de dissémination en cas d'accident sont listées ci-dessous :

-o Personnel en nombre limité dans la pièce du LSB2,

-o Port de gants jetables à usage unique,

-o Toute centrifugation doit se faire en nacelle étanche et toute ouverture de nacelle de centrifugation doit se faire sous PSM2

-o Tout vortexage doit se faire sous PSM2,

-o Le poste de sécurité microbiologique 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),

-o Disposer d'une procédure décrivant la conduite à tenir en cas de déversement de liquides biologiques ou de projections sous le PSM2,

-o Procéder à une hygiène des mains avec PHA avec retrait des gants, - Une fois fixées, les lames peuvent être colorées en dehors du PSM2, - Les milieux de culture ensemencés manuellement 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),

-- 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 ensemencement capables d'ouvrir les contenants fermés et possédant un module d'ensemencement fermé avec traitement d'air par filtre HEPA..

2-Prélèvement sans ou à faible risque de contamination

-- Pas de précautions particulières en dehors des précautions standards de manipulation des échantillons biologiques (port de gants),

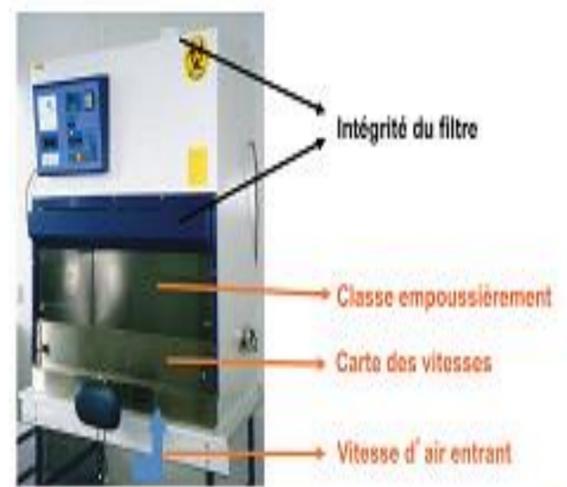
-- Les prélèvements seront traités selon les procédures standards du laboratoire (ensemencement manuel ou automatisé des prélèvements microbiologique, coloration...).

GESTION DES DÉCHETS

Les déchets générés par la prise en charge des prélèvements respiratoires et de selles, quel que soit le statut COVID-19, déposés dans un container DASRI rigide sous PSM 2 seront éliminés après un autoclavage (30 min à 121°C). En cas d'absence d'autoclave dans le laboratoire, le container DASRI rigide sera 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 standard des DASRI. - Les containers rigides DASRI devront être fermés et désinfectés par un désinfectant actif contre le COVID-19 avant d'être sorti du PSM2 - Les déchets générés par la prise en charge des prélèvements sans ou à faible risque de contamination seront éliminés selon le circuit standard des DASRI.

ENVOI DE SOUCHES

Le conditionnement recommandé : catégorie B (Norme UN 3373) / triple emballage notice d'instruction P650 avec un container rigide (emballage secondaire) placé pour le transport dans une boîte en carton.



2 : Principaux points contrôlés annuellement sur un PSM de Type II

LES ÉQUIPEMENTS DE PROTECTION INDIVIDUELLE

Les équipements de protection individuelle (EPI) sont des dispositifs ou des moyens destinés à être portés ou tenus par une personne en vue de la protéger contre un ou plusieurs risques susceptibles de menacer sa santé ou sa sécurité (article R.4311-8 du Code du travail). En fonction de l'évaluation des risques, ils viennent en complément des EPC.

Pour se prémunir du risque biologique, les EPI doivent protéger les parties suivantes : Les isolateurs sont répartis en 4 classes de confinement décroissant et les tests d'étanchéité diffèrent selon la classe de confinement .

Ainsi, pour une pression de 250 Pa nécessaire pour assurer l'étanchéité interne et externe à l'air, la baisse de pression éventuelle ne doit pas dépasser 25 Pa au bout d'une heure. En d'autres termes, la pression mesurée au bout d'une heure ne doit pas être inférieure à 225 Pa.



Godets étanches sous PSM et en centrifugeuse

RÉFÉRENCES

Manuel de sécurité et sûreté biologiques, 2ème édition, 2019. • 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, 5th Edition, CDC.
- Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from persons under investigation (PUIs) for 2019 novel coronavirus (2019-CoV), CDC 2019. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html • Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection. Interim guidance Updated October 2019, WHO/MERS/IPC/15.1 Rev 1
- Laboratory testing for middle East respiratory syndrome coronavirus. Interim guidance (revised), January 2018. WHO/MERS/LAB/15.1/Rev1/2018
- Manuel de sécurité biologique en laboratoire, 3ème édition. www.emro.who.int/fr/healthtopics/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