



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

Version 7

MAJ : 05/01/2022

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

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

Généralités

Le SARS-CoV-2 est un virus de la famille des coronavirus (coronavirus humains agents du rhume banal [HCoV-NL63, HCoV-HUK1, HCoV-OC43, HCoV-229E] ; SARS-CoV en 2003 ; MERS-CoV en 2012). Il est responsable de la COVID-19. La transmission habituelle des coronavirus est respiratoire de type « gouttelettes » et contact. Le virus peut rester viable jusqu'à 3 heures au sein d'aérosol : cet aspect doit être pris en compte en laboratoire en cas d'incident de manipulation ayant généré un aérosol ou d'incident de centrifugeuse sur des échantillons à risque élevé. En condition expérimentale, avec des inocula lourds, la survie du SARS-CoV-2 varie de moins de 3 heures à plusieurs jours en fonction du matériau concerné et des conditions environnementales. Néanmoins les coronavirus sont sensibles aux désinfectants usuels virucides tels que l'hypochlorite de sodium 0,5%, l'acide peracétique/peroxyde d'hydrogène, l'éthanol ou l'isopropanol à 70%, glutaraldéhyde...selon la norme EN 14476 s'ils sont utilisés suivant les recommandations du fabricant (respect de la concentration et du temps de contact).

Les données sur le suivi des premiers patients COVID-19 hospitalisés en France rapportent une virémie inconstante, faible et de courte durée, principalement décrite dans les formes sévères (SDRA). La détection du SARS-CoV-2 dans les urines de patients a été rapportée, mais la transmission de l'infection en lien avec la manipulation des urines n'a jamais été démontrée. En revanche, la quantité de virus dans les prélèvements respiratoires dont le liquide pleural 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. Les précautions standards de manipulation des agents infectieux au laboratoire sont suffisantes.

Ces éléments permettent d'évaluer le risque associé à la manipulation d'échantillons biologiques susceptibles de contenir du SARS-CoV-2 (prélèvements respiratoires dont



le liquide pleural et selles) pour le diagnostic d'infection COVID-19 d'une part mais éventuellement pour un diagnostic complémentaire ou différentiel (panel diagnostics, paramètres d'urgence) sans perte de chance 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 sous un PSM2 en respectant les bonnes pratiques de travail, particulièrement lors des manipulations pouvant générer accidentellement des aérosols, en mettant à disposition une conduite à tenir en cas d'incident (traçabilité du personnel et des échantillons). Seule la culture du virus doit se faire impérativement dans un LSB3.

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

Ces recommandations peuvent être amenées à évoluer au fur et à mesure de l'évolution de l'épidémie et de l'émergence de nouveaux variants.

Diagnostic et prélèvements

En France, le diagnostic spécifique de la COVID-19 est réalisé actuellement par RT-PCR spécifique sur un prélèvement naso-pharyngé [technique de référence], nasal profond, oro-pharyngé, salivaire (sur écouvillon ou aspiration) ou un prélèvement des voies respiratoires basses selon la présentation et le contexte clinique. La liste des tests commerciaux évalués et distribués est disponible sur le site de la SFM (<https://www.sfm-microbiologie.org/2020/04/03/covid-19/>).

Les prélèvements recommandés, selon le contexte clinique, pour le diagnostic initial de la COVID-19 sont les suivants :

- Un prélèvement des voies respiratoires hautes (naso-pharyngé [technique de référence], nasal profond, oro-pharyngé/écouvillons, aspirations, salive).
- Un prélèvement des voies respiratoires basses (crachats, liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), aspiration trachéo-bronchique en cas d'atteinte parenchymateuse, est à privilégier en cas d'infection évoluant depuis plus de 7 jours.

Pour plus d'informations se référer aux recommandations des CNR.



Acheminement et conditionnement des prélèvements

Les conditionnements recommandés pour l'acheminement de matériels infectieux sont les suivants :

- **Echantillons** de patients provenant de cas suspects ou confirmés : **catégorie B numéro UN3373**, « Substance biologique de catégorie B », instruction d'emballage P650 ;
- **Cultures virales (isolats viraux) : catégorie A numéro UN2814**, « substance infectieuse affectant l'Homme », instruction d'emballage P620 avec un container rigide (emballage secondaire) placé pour le transport dans une boîte en carton.

Ces modalités sont décrites en détail dans le guide pratique relatif au transport de matières infectieuses de l'OMS ([WHO-WHE-CPI-2019.20-fre.pdf](https://www.who.int/publications/m/item/who-whe-cpi-2019-20-fre)).

Afin de permettre la mise en culture virale de ces échantillons, il est rappelé qu'il faut **utiliser préférentiellement des milieux de transport pour échantillon ne contenant pas d'agent chimique inactivant les virus et/ou de ne pas réaliser d'inactivation par la chaleur des échantillons initiaux.**

1. Prélèvements à risque significatif de contamination

Prélèvements concernés :

- **Prélèvements respiratoires** : crachats, aspirations trachéales et bronchiques, prélèvements distaux protégés, liquides broncho-alvéolaires, liquides pleuraux, écouvillons naso-pharyngés pour la recherche du SARS-CoV-2
- **Prélèvements de selles**

Modalités internes d'acheminement. Pour les prélèvements destinés au diagnostic, l'acheminement vers le laboratoire peut se faire selon les mêmes modalités que les autres prélèvements infectieux, y compris via un pneumatique si celui-ci est déjà utilisé en routine pour ce type d'échantillons microbiologiques.

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 mais il est réel pour les pots à vis. **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, de protéger dans du papier absorbant les contenants à vis. Il est possible de mettre systématiquement un adsorbant dans le sachet de transport.



2. Prélèvements 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** et une hygiène régulière des mains, en particulier, suffisent pour protéger le manipulateur.

Réalisation des analyses microbiologiques au laboratoire

1. Prélèvements à risque significatif de contamination

La manipulation des échantillons à risque élevé de contamination 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, pleuraux) et selon les conditions décrites dans le paragraphe 5.2.1.7 du manuel de sécurité et de sureté biologique (annexe 1).

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

- Personnel en nombre limité dans la pièce du LSB2 ;
- Port de gants jetables à usage unique ;
- 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, annexe 1) ;
- Toute homogénéisation par utilisation d'un vortex doit se faire sous PSM2 ;
- Le PSM2 doit être nettoyé après usage avec un détergent-désinfectant virucide (Norme EN 14 476) 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.



La manipulation de ces échantillons pour la réalisation d'analyses autres que le diagnostic COVID doit respecter les recommandations suivantes :

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

Dans certains cas, formes cliniques atypiques, formes très sévères, suspicion de nouveau variant sur des résultats de PCR de criblage, de diagnostic ou de séquençage atypiques, prendre contact avec le CNR des virus respiratoires afin de discuter de l'envoi des prélèvements positifs concernés (adresses ci-dessous).

2. Prélèvements 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 microbiologiques, coloration...).

Gestion des déchets

En LSB2, les déchets générés par la prise en charge des prélèvements à risque significatif de contamination, quel que soit le statut COVID-19, déposés dans un container DASRI rigide sous PSM2 devront être fermés et désinfectés par un désinfectant actif contre la COVID-19 avant d'être sorti du PSM2 et de rejoindre le **circuit standard des DASRI**.

En LSB3, les déchets suivent le mode usuel d'élimination des déchets mis en place dans le laboratoire comprenant obligatoirement **un pré-traitement par autoclavage** (a minima 20 minutes à 121°C recommandé) avant leur sortie définitive pour élimination par le circuit des DASRI.



Adresses du Centre National de Référence (CNR) des virus des infections respiratoires (dont la grippe) :

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

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

Références

- Manuel de sécurité et sûreté biologiques, 2e édition, 2019.
- CDC, <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/guidelines-clinical-specimens.html>, update 25/10/2021
- WHO laboratory testing SARS-CoV-2, <https://www.who.int/publications/i/item/diagnostic-testing-for-sars-cov-2> (septembre 2020)
- WHO laboratory biosafety SARS-CoV-2, <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WPE-GIH-2021.1> (janvier 2021)
- Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th Edition, CDC.
- Information for Laboratories about Coronavirus (COVID-19), CDC update Mar, 28 2021. www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/index.html
- WHO laboratory testing MERS-CoV, <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259952/WHO-MERS-LAB-15.1-Rev1-2018-eng.pdf> (janvier 2018)
- Manuel de sécurité biologique en laboratoire, 3^e 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.
- 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).