



## Fièvre à virus EBOLA

### Mesures de prévention lors de la réalisation des analyses biologiques

Audrey MERENS

HIA Bégin (Saint-Mandé)



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Classification OMS



Critère \ Groupe	1	2	3	4
Pathogène chez l'homme	Non	Oui probable	Oui Maladie grave	Oui Maladie très grave
Dangereux pour l'opérateur	Sans objet	Oui Modérément	Oui Risque élevé	Oui Risque très élevé
Propagation	Sans objet	Peu probable	Possible	Risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement	Sans objet	Oui	Oui généralement	Non
Exemples	<i>B. subtilis</i> <i>E. coli</i> non pathogène	Virus de la rougeole <i>Clostridium tetani</i>	VIH, VHB <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Virus Ebola Virus de la variole

Tableau 1 : Groupes de risques : du plus faible (1) au plus important (4)  
Les cahiers de la prévention, CNRS



- Filoviridae : **Ebola** et Marburg
- Arenaviridae : Virus de Lassa, Junin, Machupo
- Bunyaviridae : FH de Crimée-Congo
- Virus de la variole
- Mobillivirus equin

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Prélèvement



- Personnel formé
- Porteur d'EPI adapté
- Matériel sécurisé
- Contenants bien fermés
  - Attention : urines
- Trempage des tubes dans l'eau de Javel
- Utilisation d'un triple emballage agréé
  - L'extérieur du triple emballage doit être exempt de toute contamination
- Pas d'utilisation du pneumatique

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014



## En laboratoire Accidents d'exposition au virus EBOLA

- 1976, Royaume-Uni
  - Minuscule coupure
- 1994, Suisse
  - Zoologiste lors d'une autopsie d'un chimpanzé
- 2004
  - USA
  - Russie
- 2009, Allemagne
  - Piqûre avec une aiguille ayant préalablement servi pour réaliser une injection chez la souris infectée

Dans l'épidémie actuelle : les contaminations secondaires touchent majoritairement les soignants au contact du malade

## Risques en laboratoire : pour le travailleur



- Accident d'exposition transcutanée
  - Coupures
  - Piqûres
  - Morsures, griffures
- Contamination cutanée (puis transfert vers muqueuse) ou muqueuse
  - Renversement/déversement
  - Microgouttelettes
  - Gestion des déchets
  - Contamination des surfaces
- Contamination des EPI
  - Contamination lors du retrait des EPI
- Génération d'aérosols



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Risques en laboratoire pour le travailleur : production d'aérosols

- Centrifugation
  - À l'ouverture du tube
  - Tube cassé
- Ouverture tubes, milieux de culture ou lyophilisats
- Vibrations induites (Vortex, agitation, Ultra-sons)
- Broyage, grattage surfaces sèches
- Manœuvres de pipetage (manuelles ou automatiques)
- Versement et mélange liquides de culture
- Percement de flacons d'hémocultures
- Manipulation d'aiguilles et seringues
- Flambage ou refroidissement d'anses
- Lyophilisation et filtration sous vide
- Inoculation d'œufs ou d'animaux
- Manipulation litières



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Risques liés au laboratoire pour l'environnement

- Liés à tout ce qui sort du laboratoire
  - Air rejeté
  - Effluents liquides
    - Effluents de points d'eau
    - Colorants
    - Milieux liquides
    - Effluents des automates
  - Déchets solides
  - Échantillons ou sous-produits
  - « Utilisateur »

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Objectifs du confinement

Protéger le travailleur



Protéger la population



Protéger l'environnement



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014



GRUPE DE RISQUE	NIVEAU DE SECURITE	TYPE DE LABORATOIRE	PRATIQUES DE LABORATOIRE	APPAREILLAGE DE SECURITE
1	De base – niveau de sécurité biologique 1	Enseignement de base	BTM	Aucun; paillasse sans protection
2	De base – niveau de sécurité biologique 2	Services de santé primaires; laboratoire d'analyses ou de recherche	BTM et vêtements protecteurs, logo de risque biologique	Paillasse sans protection et ESB contre le risque d'aérosols
3	Confinement – niveau de sécurité biologique 3	Diagnostic spécialisé, recherche	Comme niveau 2, plus vêtements spéciaux, accès réglementé et flux d'air dirigé	ESB ou autres moyens de confinement primaire pour l'ensemble des activités
4	Confinement à haute sécurité – niveau de sécurité biologique 4	Manipulation de germes pathogènes dangereux	Comme niveau 3, plus sas à air à l'entrée, douche à la sortie et élimination spécifique des déchets	ESB classe III ou combinaisons pressurisées utilisées avec une ESB classe II, autoclave à deux portes formant sas mural, air filtré



BTM, bonnes techniques microbiologiques; ESB, enceinte de sécurité biologique (voir Partie IV).

## Réglementation française

**Art. 5.** – Pour les établissements mentionnés aux *a*, *b* et *c* de l'article 1<sup>er</sup> et lorsqu'il existe une suspicion de présence d'un agent biologique du groupe 4 dans un échantillon, les mesures particulières suivantes sont mises en place :

1. Les échantillons susceptibles de contenir des agents biologiques du groupe 4 sont envoyés, conformément à la réglementation relative au transport des matières infectieuses :
  - à un établissement disposant d'installations de niveau de confinement 4, conforme à l'annexe V, pour l'isolement et la culture de l'agent biologique ;
  - ou à un établissement disposant d'installations de niveau de confinement 3 pour les analyses d'urgence autres que l'isolement ou la culture de l'agent biologique. Si l'échantillon est inactivé, un niveau de confinement 2 peut être suffisant.

### Cas possible d'EBOLA : analyses classiques (paludisme, hématologie, biochimie, hémostase) à traiter en P3

+ recommandations du HCSP du 10 avril 2014 : avec en plus une « boîte à gants »

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Réglementation française

**Art. 5.** – Pour les établissements mentionnés aux *a*, *b* et *c* de l'article 1<sup>er</sup> et lorsqu'il existe une suspicion de présence d'un agent biologique du groupe 4 dans un échantillon, les mesures particulières suivantes sont mises en place :

1. Les échantillons susceptibles de contenir des agents biologiques du groupe 4 sont envoyés, conformément à la réglementation relative au transport des matières infectieuses :
  - à un établissement disposant d'installations de niveau de confinement 4, conforme à l'annexe V, pour l'isolement et la culture de l'agent biologique ;
  - ou à un établissement disposant d'installations de niveau de confinement 3 pour les analyses d'urgence autres que l'isolement ou la culture de l'agent biologique. Si l'échantillon est inactivé, un niveau de confinement 2 peut être suffisant.

Lorsqu'un agent biologique de groupe 4 est identifié, les échantillons sont traités dans une salle de niveau de confinement 4.

### Cas confirmé : toutes les analyses en P4 ...

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Confinement de niveau 4



### P4 de Lyon Cultures virales RT-PCR Sérologies

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014



# Et les autres analyses ?

## Nécessité de modifier la réglementation

ARRETE  
Arrêté du 6 août 2014 relatif à l'autorisation de manipulation dérogatoire de l'agent biologique de groupe 4 Ebola à des fins de réalisation d'examen  
biologiques pour les patients atteints d'infection avérée à cet agent

NOR: AFSP1419373A  
Version consolidée au 10 août 2014

A titre dérogatoire, la réalisation d'examen biologiques pour les patients atteints d'infection avérée à l'agent biologique de groupe 4 Ebola est autorisée dans les établissements de santé qui disposent d'installations de niveau de confinement 3 et qui sont équipés d'un poste de sécurité microbologique de niveau III (PSM III).  
A défaut, elle peut être organisée dans les établissements de santé qui disposent :

- d'installations de niveau de confinement 3 et sont équipés d'un poste de sécurité microbologique de niveau II (PSM II) ;
- d'un automate placé sous tente plastique de protection et implanté dans la chambre d'isolement à pression négative du patient.

Ces établissements prennent les mesures de sécurité et de sûreté adaptées nécessaires en termes d'équipements, de décontamination et de conditions de travail.

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

Protéger le travailleur

1ère barrière : le poste de sécurité microbologique ou PSM

2ème barrière

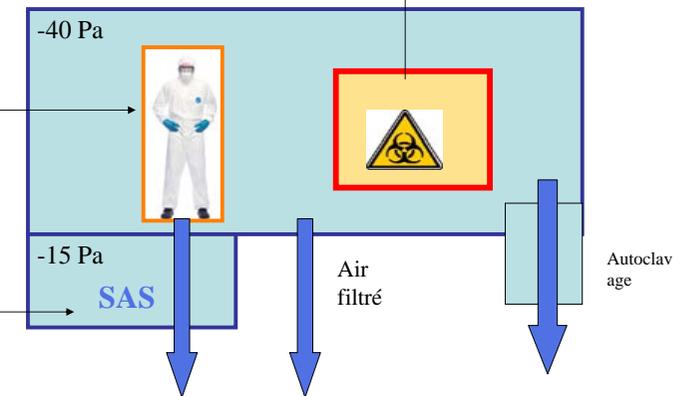
EPI et bonnes pratiques

3ème barrière :  
architecture des locaux

Protéger l'environnement



Protéger la population



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Les postes de sécurité microbologique de type III

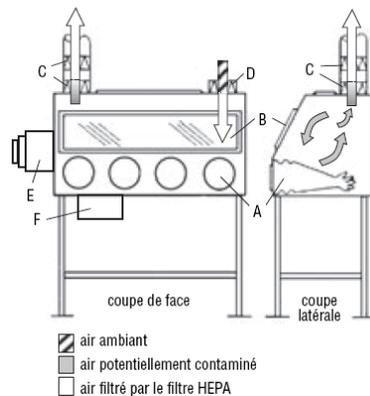


Figure 9. Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe III (boîte à gants).  
A, orifices de fixation des manchons à gants; B, panneau d'observation à guillotine; C, deux filtres HEPA d'évacuation montés en série; D, filtre HEPA d'admission; E, autoclave à deux portes ou sas de passage; F, cuve de désinfection chimique. Il est nécessaire de raccorder le circuit d'évacuation de l'enceinte à un circuit d'évacuation du bâtiment indépendant.

## Les postes de sécurité microbologique de type III

- Protection optimale du manipulateur : projection, gouttelettes, aérosols
- Mais
  - Encombrant
  - Impossible à installer dans certains laboratoires
  - Nécessité éventuelle de travaux
  - Cher
  - Délai de fabrication long
  - Process de travail complètement différent
    - Formation du personnel



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Les postes de sécurité microbiologique de type II

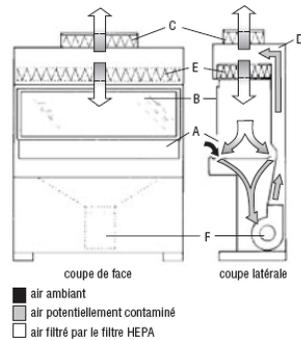


Figure 7. Représentation schématique d'une enceinte de sécurité biologique de classe II, type A1.  
A, ouverture frontale; B, panneau d'observation à guillotine; C, filtre HEPA d'évacuation; D, chambre de distribution arrière; E, filtre HEPA d'admission; F, ventilateur.

Disponible dans la majorité des P3

Manipulations simples

Très bonne protection du travailleur, mais n'élimine pas le risque de projection

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Bonnes pratiques : Eviter les actes à risques

- Limiter les objets piquants, coupants, tranchants
- Centrifugation
  - Godets de sécurité
  - Rotors de sécurité



- Cytocentrifugation
- Vortex !



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Maladie à virus EBOLA : Impact sur les analyses biologiques

- Hématologie
  - Automatisée : avoir un petit automate, à tube fermé
  - Frottis : à risque (ouverture, étalement...)
- Hémostase
  - Avoir un petit automate, travaillant si possible sans centrifugation
    - Surtout tube ouvert
    - Panel très limité (pas de facteurs)
- Immuno-hématologie : dérogation
  - RAI nécessite centrifugation de cartes spéciales : infaisable
  - Groupe sanguin :
    - Nécessité de passer à un TDR
    - Seulement épreuve globulaire



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Maladie à virus EBOLA : Impact sur les analyses biologiques

- Biochimie:
  - Avoir un petit automate, sans centrifugation
  - Peu d'effluents
  - La majorité à tube ouvert
  - Panel plus limité mais correct
- Paludisme
  - TDR possible
    - Moins sensible, à réitérer le lendemain si forte suspicion
  - Frottis sanguin possible
    - Adapter la séquence de travail : fixation et coloration sous PSM
  - Goutte épaisse : dangereuse +++ (Ne pas faire, accord du CNR)
    - Volume de sang important
    - Etape de « touillage », pas de fixation
    - Difficultés de lecture majorée par les EPI



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Maladie à virus EBOLA : Impact sur les analyses bactériologiques

- LBA
  - **Cyto centrifugation !!!**
  - **Rendu limité de l'examen direct**
- Cathéters
  - **Vortex !!**
- Hémocultures



Risque si  
hémocultures  
positives



Lieu d'incubation ?

Automatisée ?

Manuelle ?

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Séquences de travail sans PSM3



Au minimum :  
Un opérateur (PSM II)  
Un aide (hors PSM II)

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## Mise en alerte 1<sup>ère</sup> EVASAN

- Installation des automates dans le LSB3 mobile
  - 17 et 18/09



HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

## 1<sup>ère</sup> EVASAN

Emballage des échantillons dans le SAS de la chambre

Envoi CNR

Déplacement vers LSB3

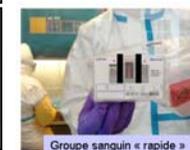


19/09/2014, 7h



**Bilan initial :**

- Biochimie
- Hématologie
- TDR paludisme
- Groupe sanguin rapide



Hémostase (TP, ACT, en biologie délocalisée)

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

Groupe sanguin « rapide »

TDR Paludisme

## Analyses dans la chambre du patient



- En appoint
- Analyses urgentes
- Analyses non disponibles en P3 à ce moment là (TP, ACT)
- Analyses non réalisables en P3 au vu du délai préanalytique (gazométrie)

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014

25

## Conclusion

- La meilleure prévention : limiter les actes invasifs et les analyses
  - Dialogue clinicien-biologiste
- Pour les ESR
  - Coût en équipement ++
  - Formation du personnel ++
  - Mise en place de la PCR ?
- Pour les non ESR
  - N'accepter au laboratoire aucun échantillon de « cas possible »
  - Identifier rapidement les patients à risque

HIA Bégin- Audrey MERENS- 2014