

# GUIDE PRATIQUE

pour le prélèvement, la conservation et le transport des échantillons pour confirmation en laboratoire du Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS – CoV)

Programme de Surveillance et Action contre les maladies

Groupe organique de Lutte contre la maladie

Juillet 2013

---

# GUIDE PRATIQUE

pour le prélèvement, la conservation et le  
transport des échantillons pour confirmation en  
laboratoire du Coronavirus du Syndrome  
Respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

---

Juillet 2013

Programme de Surveillance et Action contre les maladies

Groupe organique de Lutte contre la maladie

Organisation Mondiale de la Santé

Bureau Régional pour l'Afrique

Brazzaville • 2013

## Sommaire

	<b>Page</b>
<b>Introduction</b>	<b>3</b>
<b>Contexte</b>	<b>3</b>
<b>Prélèvement et manipulation des échantillons pour le dépistage du MERS-CoV</b>	<b>6</b>
<b>Quels échantillons prélever</b>	<b>6</b>
<b>Comment préparer la documentation</b>	<b>7</b>
<b>Quelles sont les matériels nécessaires</b>	<b>7</b>
<b>Comment prélever les échantillons</b>	<b>8</b>
<b>Comment conserver les échantillons</b>	<b>12</b>
<b>Comment emballer les échantillons</b>	<b>12</b>
<b>Comment transporter les échantillons</b>	<b>14</b>
<b>Références</b>	<b>15</b>

# Guide Pratique pour le prélèvement, la conservation et le transport des échantillons pour confirmation en laboratoire du Coronavirus du Syndrome Respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV)

---

## Introduction

Le présent guide pratique porte sur les procédures de prélèvement et de traitement des échantillons respiratoires pour confirmation en laboratoire du coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV). Il est principalement destiné à être utilisé par les prestataires de soins médicaux et par le personnel de santé publique lors des investigations sur des cas suspects de MERS-CoV. Il n'a pas l'ambition d'être un manuel exhaustif sur les procédures de laboratoire .

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) continue de surveiller de près la situation du MERS-CoV à travers le monde et si celle-ci évolue au point d'affecter les procédures contenues dans le présent guide pratique, l'OMS publiera une mise à jour de ces procédures. Autrement, le présent document expirera 12 mois après sa date de publication.

Les recommandations suivantes ont été élaborées par l'OMS et revues par des experts de laboratoire. Le processus de l'élaboration du document a, en partie, consisté à examiner la littérature actuelle sur le MERS-CoV.

## Contexte

Les coronavirus sont une grande famille comprenant des virus responsables d'un éventail de maladies affectant les humains qui vont du rhume banal au syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS). Les virus appartenant à cette famille causent aussi un certain nombre de maladies animales.

Le MERS-CoV est une souche particulière de coronavirus qui n'avait jamais été identifiée chez l'homme. Les informations sur sa transmission, sa sévérité et son impact clinique restent limitées et seuls quelques rares cas ont été signalés jusqu'ici.

Bien que l'on ne connaisse pas la durée d'exposition à la maladie qui entraîne l'infection ni la nature de l'exposition qui cause l'infection chez les patients dont l'exposition a été établie ou est fortement suspectée, la période d'incubation du MERS-CoV confirmée par des tests en laboratoire est généralement inférieure à une semaine. Des données sur des patients exposés sur une certaine échelle de temps suggèrent que la période d'incubation n'excède une semaine que dans une minorité de cas et qu'elle est inférieure à deux semaines.

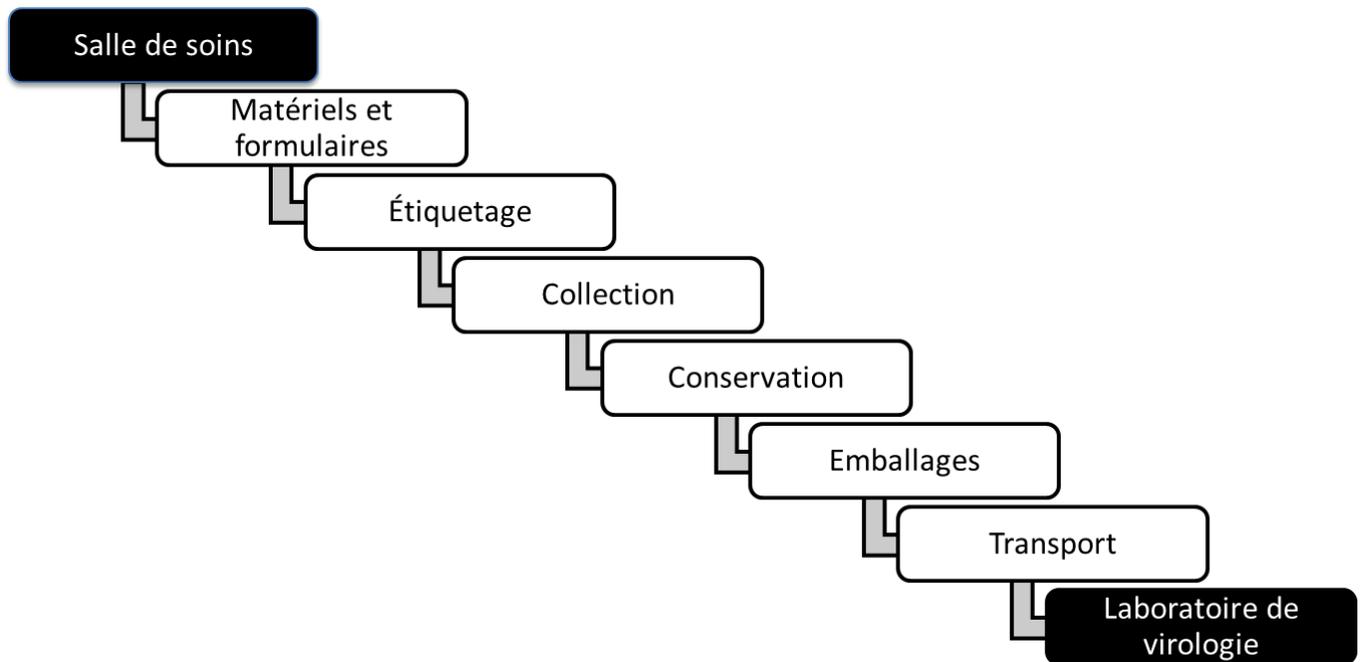
Toutes les personnes dont l'infection par le MERS-CoV a été confirmée souffraient d'une maladie respiratoire, de pneumonie pour la majorité d'entre eux, et la moitié sont décédés. Parmi les complications observées pendant la maladie, il y a la pneumonie sévère avec insuffisance respiratoire nécessitant une ventilation mécanique, le Syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA) avec défaillance de plusieurs organes, l'insuffisance rénale nécessitant une dialyse, la coagulation intravasculaire disséminée, et la péricardite. Dans quelques cas, des symptômes gastro-intestinaux ont été notés pendant la maladie, notamment la diarrhée.

L'accès à des analyses rapides et précises des échantillons prélevés sur les cas sous investigation est une partie essentielle de la surveillance de cette infection émergente. Chaque pays doit disposer d'un laboratoire national de référence pour effectuer de manière fiable la détection primaire ou les tests de confirmation du MERS-CoV ou avoir accès à un laboratoire de référence dans d'autres pays.

Suivre les bonnes procédures lors du prélèvement et du traitement des spécimens est important et a des implications sur les résultats issus des tests de laboratoire. Par exemple, de faux résultats négatifs peuvent provenir de :

- mauvaise qualité des spécimens, par exemple des échantillons des voies respiratoires contenant principalement de la matière provenant de l'oropharynx
- spécimens prélevés trop tard ou trop tôt pendant la maladie
- mauvaise manipulation ou expédition des spécimens

*Une manipulation appropriée des spécimens de MERS-CoV est essentielle pour toutes les étapes du prélèvement aux tests en laboratoire*



Le présent document donne des directives sur les procédures à suivre pour la collecte, la manipulation et le transport des spécimens de la salle de soins au laboratoire de référence, que celui-ci se trouve dans ou hors du pays, pour la confirmation du MERS-CoV. Il couvre tous les éléments clés du processus :

- quand prélever les échantillons
- quels échantillons à prélever
- comment préparer la documentation
- quels sont les matériels nécessaires
- comment collecter les échantillons
- comment conserver les échantillons

- comment emballer les échantillons
- comment transporter les échantillons

## Prélèvement et manipulation des échantillons pour confirmation du MERS-CoV

Avant de procéder au prélèvement des échantillons pour effectuer la confirmation du MERS-CoV, déterminer si le patient répond à la définition de cas définie pour le MERS-CoV par l’OMS

(voir [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/case\\_definition/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/index.html)).

### Quand prélever les spécimens

Les échantillons des voies respiratoires destinés à la détection directe des acides nucléiques peuvent être prélevés à tout moment pendant la phase aiguë de la maladie, mais la meilleure période est la première semaine de la maladie. Les spécimens doivent être prélevés à différents moments après l’apparition des symptômes, si possible.

### Quels échantillons à prélever

Il convient d’avoir une variété de spécimens pour le diagnostic du MERS-CoV, incluant des échantillons des voies respiratoires et du sérum prélevés au stade aigu et en phase de convalescence. Le présent document porte sur les spécimens des voies respiratoires.

Des données de plus en plus nombreuses suggèrent que les échantillons prélevés sur les sécrétions nasopharyngées ne sont pas aussi sensibles que les échantillons prélevés sur les voies respiratoires inférieures pour détecter l’infection du MERS-CoV. Aucune comparaison directe entre les deux approches n’a encore été établie, mais, chez certains patients, et au cours de la même maladie, les échantillons nasopharyngés ont donné des résultats négatifs pour le MERS-CoV à un certain stade alors que les spécimens provenant des voies respiratoires inférieures ont donné des résultats positifs à un autre stade. De plus, dans plusieurs groupes de patients, les prélèvements nasaux chez des personnes fortement suspectées d’être infectées par le MERS-CoV du fait qu’elles y ont été directement exposées et souffrant d’une maladie respiratoire sévère ont donné des résultats négatifs, tandis que les spécimens prélevés sur les voies respiratoires inférieures chez d’autres personnes appartenant au même groupe ont donné des résultats positifs.

L'OMS recommande maintenant fortement d'utiliser les spécimens provenant de l'appareil respiratoire inférieur tels que les expectorations, l'aspirat endotrachéal et les échantillons du lavage broncho-alvéolaire, chaque fois que possible, en plus des prélèvements nasopharyngés pour le diagnostic par la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en attendant que d'autres informations soient disponibles pour montrer la meilleure pratique. Afin d'augmenter les chances de détecter l'infection, il est recommandé de prélever les spécimens à des sites différents.

Les patients fortement suspectés d'être infectés par le MERS-CoV sur lesquels les tests initiaux effectués en utilisant un spécimen nasopharyngé montrent des résultats négatifs doivent être dépistés de nouveau en utilisant un échantillon provenant des voies respiratoires inférieures. S'il n'est pas possible de prélever des spécimens dans les voies respiratoires inférieures, il faut répéter le test en utilisant un spécimen des voies respiratoires supérieures avec, toutefois, un spécimen oropharyngé.

### Comment préparer la documentation

Les informations à fournir dans les formulaires d'enquête sur les cas et les formulaires des demandes adressées à des laboratoires pour accompagner les spécimens sont stipulées dans les *Lignes directrices sur la surveillance intégrée des maladies* ou dans le *protocole de surveillance sentinelle de la grippe*. Le formulaire de recueil des données doit inclure : les informations générales sur le patient, le type de spécimens et la date à laquelle ceux-ci ont été prélevés, les coordonnées de la personne qui a rempli le formulaire, etc. Si possible, les données doivent fournir une description clinique de la maladie, y compris la date d'apparition des premiers symptômes, l'occurrence des complications et l'historique naturelle de l'infection.

Il est également crucial que l'agent de santé qui prélève les spécimens obtienne des détails sur l'historique d'exposition clinique du patient, le contact avec des animaux et des séjours récents dans les zones où l'épidémie a été signalée.

Chaque récipient contenant des spécimens doit être étiqueté et comporter le numéro d'identification du patient ainsi que le type de spécimen et la date à laquelle il a été prélevé.

### Quelles sont les matériels nécessaires

Avant de manipuler les échantillons, il faut s'assurer que tout le matériel requis pour leur prélèvement et acheminement vers le laboratoire pour les tests est prêt et que l'efficacité et la sûreté de ces opérations sont garanties. La liste du matériel essentiel proposé doit inclure :

- gants en latex ou en nitrile stérilisés
- vêtements de protection tels que (chemise, blouse ou tablier)

- masques
- visière, lunettes ou écran facial
- désinfectants chimiques (tels que hypochlorite)
- boîtes triple emballage
- conteneur à déchets étanche

Pour les échantillons prélevés sur les voies respiratoires inférieures, les articles suivants sont requis en plus des matériels essentiels ci-dessus :

- collecteur d’expectorations/ou de mucus
- applicateur avec extrémité en fibre de polyester
- flacons en plastique
- abaisse-langue
- verre de collecte d’expectoration stérile, étanche avec fermeture à vis ou récipient sec stérile
- pipettes de transfert

Pour les échantillons prélevés sur les voies respiratoires supérieures, ajouter les articles suivants à la liste :

- Ecouillons — n’utiliser que les écouillons en Dacron ou en rayonne stériles avec des tiges en plastique ou les écouillons floqués, s’ils sont disponibles. . NE PAS utiliser les écouillons en alginate de calcium ou les écouillons avec tiges en bois, car ils peuvent contenir des substances qui inactivent les virus de l’hépatite c et inhibent certains tests moléculaires.
- Les milieux de transport viral pour la conservation et l’expédition des écouillons.

## Comment prélever les échantillons

Tous les échantillons doivent être considérés comme étant potentiellement infectieux, et le personnel de santé qui manipule les échantillons cliniques doit adhérer scrupuleusement aux précautions standards afin de minimiser la possibilité d’une exposition aux pathogènes. Les spécimens de MERS-CoV doivent être manipulés conformément aux pratiques de biosécurité appropriées afin d’éviter les infections en laboratoire et la propagation de la maladie.



Les précautions standards doivent être toujours prises et les mesures de protection toujours appliquées par tout le personnel prélevant des échantillons sur les patients. Il est important de toujours se rappeler que les mesures de sûreté et de décontamination protègent le personnel chargé de prélever les échantillons et leurs collègues, le personnel de laboratoire et le patient des risques inhérents au prélèvement.

*Les vêtements de protection individuelle doivent être portés lorsque l'on manipule les spécimens*

Le prélèvement d'échantillons cliniques sur les patients doit être effectué par un personnel formé. Il est essentiel que les personnes devant être chargées de prélever les spécimens dans les salles de soin et celles à qui est confiée la responsabilité des aspects logistiques de manutention des échantillons depuis le service hospitalier jusqu'au laboratoire soient identifiées à l'avance.

### *Spécimens des voies respiratoires inférieures*

En raison des pénuries de personnel pourvu des compétences techniques requises et de matériel, le prélèvement éventuel des spécimens des voies respiratoires inférieures autres que les expectorations doit être limité aux seules personnes admises à l'hôpital.

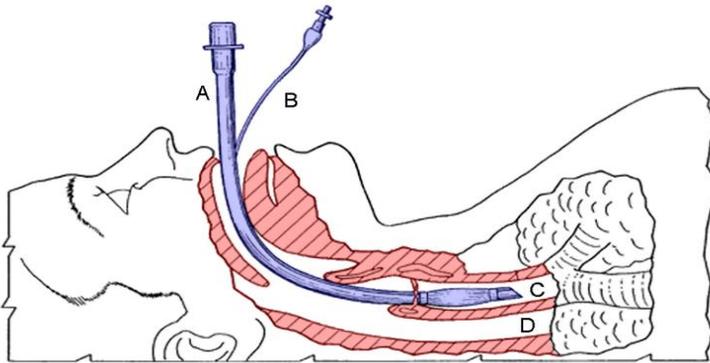
**Expectorations:** Le prélèvement des expectorations produites naturellement peut représenter un risque d'infection particulier pour le personnel soignant. L'agent de santé qui prélève le spécimen doit s'assurer que la matière recueillie provient bien des voies respiratoires inférieures. Il est important d'expliquer au patient la différence entre les expectorations et les sécrétions orales. Il faut que le patient se rince d'abord la bouche avec de l'eau. Ensuite il ou elle doit inspirer profondément et expectorer le crachat de toux profonde directement dans un verre de collecte d'expectorations stérile, étanche avec fermeture à vis ou dans un récipient sec stérile.

Des échantillons de 3-5 ml de matière visqueuse mucopurulente sont considérés comme étant des échantillons de bonne quantité et qualité.

**Aspirat endotrachéal :** Le prélèvement d'aspirat endotrachéal est une procédure médicale par lequel des échantillons d'aspirat sont obtenus chez un patient intubé. Les échantillons d'aspirat endotrachéal, qui doivent être manipulés de façon stérile, peuvent être recueillis dans un tube endotrachéal en aspirant dans un collecteur stérile. Cette technique ne doit être utilisée que par un personnel médical bien formé.

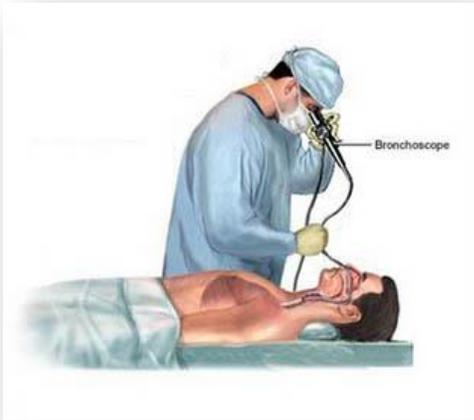


*Des collecteurs stériles des échantillons peuvent être utilisés pour recueillir l'aspirat trachéal*



*Seul le personnel qualifié doit prélever les échantillons d'aspirat endotrachéal.*

**Spécimens de lavage broncho-alvéolaire:** Le lavage broncho-alvéolaire est une procédure médicale dans lequel un bronchoscope est introduit par la bouche ou le nez dans les poumons et du fluide est aspergé sur une petite partie du poumon et ensuite récupéré pour examen. A cause de sa nature invasive, seuls des professionnels de santé formés doivent utiliser cette procédure pour prélever des échantillons.



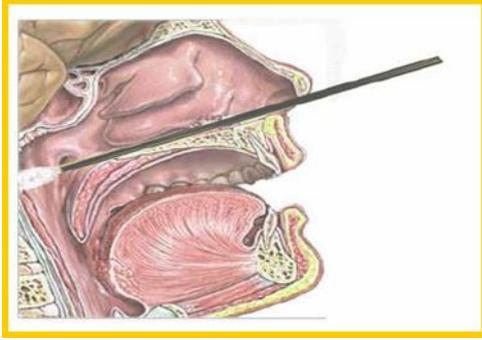
*La procédure de lavage broncho-alvéolaire est invasive et ne doit être effectuée que par un personnel qualifié.*

For Pour les procédures d'aspirat endotrachéal ou de lavage broncho-alvéolaire, 2-3 ml d'échantillons doivent être prélevés dans un verre de collecte d'expectorations stérile, étanche avec fermeture à vis ou un récipient sec stérile. .

### ***Spécimens des voies respiratoires supérieures***

***Spécimens nasopharyngés prélevés par écouvillonnage:*** Cette procédure implique d'insérer un écouvillon en polyester dans la narine pour atteindre le nasopharynx. Un écouvillon flexible à tige doit être utilisé ; NE PAS utiliser un écouvillon rigide. L'écouvillon doit être glissé directement dans la narine en maintenant la tête du patient légèrement penchée en arrière. L'écouvillon doit être inséré en touchant la base de la narine en ciblant la fosse auditive d'environ 5-6 cm chez les adultes pour qu'il atteigne le pharynx postérieur. Les étapes suivantes doivent être suivies pour s'assurer que l'échantillon prélevé est de bonne qualité :

- L'écouvillon doit être gardé en place pendant quelques secondes.
- L'écouvillon doit être retiré lentement en le pivotant légèrement.
- L'extrémité de l'écouvillon doit être placée dans un flacon contenant un milieu de transport viral, et ensuite la tige de l'aplicateur doit être brisée.
- Un deuxième écouvillon doit être utilisé pour l'autre narine et placé dans un deuxième tube. Il peut servir de deuxième échantillon pour le même patient.



*Un écouvillon nasopharyngé doit être inséré jusqu'à atteindre le nasopharynx.*

Le prélèvement d'échantillons nasopharyngés est un processus invasif pouvant causer des souffrances considérables au patient.

### **Comment conserver les échantillons**

Les échantillons des voies respiratoires inférieures tels que les expectorations, l'aspirat endotrachéal ou les échantillons de lavage broncho-alvéolaire doivent être placés dans un tube pour centrifugeuse sans milieu de transport viral. Toutefois, le prélèvement de l'écouvillon nasopharyngé doit être placé dans un milieu de transport viral comme indiqué ci-dessus.

Par la suite, les échantillons prélevés dans les voies respiratoires soit inférieures soit supérieures doivent être conservés de la manière suivante avant leur transport au laboratoire :

- Les spécimens doivent être conservés dans de la glace et transportés au laboratoire dès que possible.
- Pour des périodes de 24 heures ou plus courtes, la plupart des spécimens peuvent être gardés à une température de 2-8 °C plutôt qu'être congelés ;
- Dans le cas où les tests sont retardés de plus de 24 heures, il faut donc envisager la congélation des spécimens en utilisant de la glace sèche ou en les conservant à une température de -70 °C dès que possible après prélèvement.

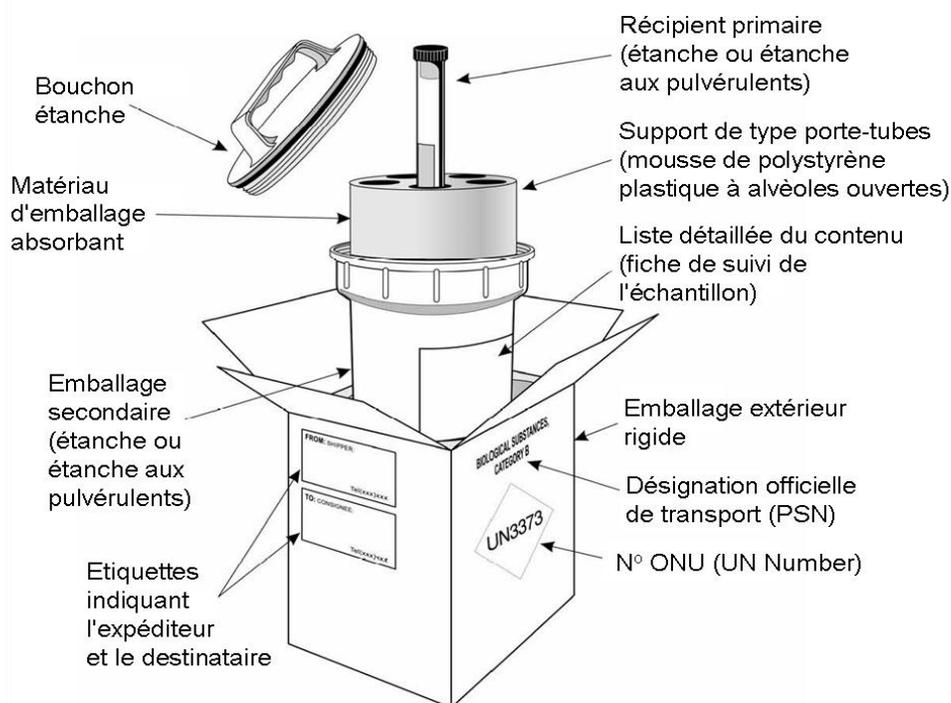
### **Comment emballer les échantillons**

Le triple emballage est exigé pour les matières infectieuses. Il comprend :

- L'emballage primaire qui contient les spécimens.
- L'emballage secondaire, qui peut avoir la capacité de contenir plusieurs conteneurs primaires.
- L'emballage externe qui protège les conteneurs de l'intérieur pendant le transport.

Tous les spécimens doivent être emballés de façon à éviter la rupture et la fuite des conteneurs. Les conteneurs de spécimens, tout comme les conteneurs secondaires, doivent être étanches. Les matières absorbantes doivent être suffisantes pour absorber tout le contenu du conteneur secondaire en cas de fuite et pour séparer les conteneurs primaires afin de les empêcher de se casser. Les spécimens doivent être transportés avec des poches froides ou d'autres blocs réfrigérants autonomes, et non pas avec de la glace humide, afin d'empêcher les fuites et les déversements. Lorsqu'un grand nombre de spécimens est expédié, ceux-ci doivent être disposés séquentiellement par numéro dans des boîtes à compartiments séparés contenant chacune un spécimen. Des consignes d'emballage détaillées pour le transport international des substances infectieuses sont contenues dans le *Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au Transport des matières infectieuses 2013–2014 de l'OMS* (en vigueur à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2013).

Sur la base des connaissances actuelles, les caractéristiques du MERS-CoV ne justifient pas la classification de ses spécimens parmi les substances infectieuses de Catégorie A en ce qui concerne leur transport. En conséquence, et conformément à la réglementation internationale applicable en la matière, l'avis de l'OMS est que les spécimens du MERS-CoV peuvent être transportés en toute sécurité en tant que substance biologique de Catégorie B, numéro ONU 3373.



*Les spécimens du MERS-CoV peuvent être transportés dans l'emballage utilisé pour les substances biologiques de Catégorie B. [Consigne d'emballage 650 (PI650)].*

Quelques consignes importantes à observer :

- Ne pas placer de la glace sèche, des enveloppes en mousse, des sacs ziploc, des boîtes cryoviales, ou des récipients hermétiquement fermés dans le conteneur primaire ou secondaire.
- Ne pas placer les conteneurs primaires de travers ou à l'envers dans les sacs ziploc
- Ne pas placer de documents papier dans le conteneur secondaire ou dans les sacs ziploc où ils peuvent être endommagés.
- Ne pas utiliser de sacs pour substances dangereuses/ou autoclaves pour préemballer vos substances car ils ne sont pas suffisamment hermétiques.

## Comment transporter les échantillons

Le transport des spécimens à l'intérieur des frontières nationales doit obéir à la réglementation nationale. Le transport international des échantillons des MERS-CoV doit obéir au règlement international en vigueur selon la description qui en est faite dans le *Guide pratique sur l'application du Règlement relatif au Transport des matières infectieuses 2013–2014 de l'OMS*, (en vigueur à partir du 1<sup>er</sup> janvier 2013), disponible à : [http://www.who.int/ihr/publications/who\\_hse\\_ihr\\_20100801/en/index.html](http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_20100801/en/index.html). Les expéditeurs doivent savoir que les compagnies aériennes individuelles peuvent avoir une politique plus stricte que la réglementation internationale applicable en matière de transport.

Il est souhaitable d'utiliser des matériaux d'emballage de fabrication commerciale si les spécimens doivent être expédiés hors du pays. Il est crucial que la température appropriée soit maintenue pendant le transport. Si le temps entre le moment où le spécimen est prélevé et celui où il arrive au laboratoire est susceptible de dépasser 24 heures, les spécimens doivent être congelés et expédiés en utilisant de la glace sèche et des emballages réfrigérants contenant de la glace d'eau gélifiée congelée. Les emballages réfrigérants peuvent rester congelés pendant une journée ou deux après que la glace sèche s'est dissipée. Les laboratoires de référence capables de faire le diagnostic pour le MERS-CoV ne sont pas souvent disponibles dans tous les pays. Si les spécimens doivent être transportés à l'étranger, il est essentiel d'obtenir l'accord du laboratoire de réception avant de les expédier afin que ledit laboratoire puisse prendre les dispositions en vue de l'obtention des permis d'importation et apprêter les tests de façon à les effectuer dès que possible à l'arrivée des échantillons. L'OMS aidera les pays à contacter le laboratoire de référence en cas de nécessité.

## Références

- CDC. Interim Guidelines for Collection, processing and transport of clinical specimens from patients under investigation for Middle East respiratory syndrome (MERS): <http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/downloads/Interim-Guidelines-MERS-Collection-Processing-Transport.pdf>
- WHO. Coronavirus infections: [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/en/](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/en/)
- WHO. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014 (Applicable from 1 January 2013): [http://www.who.int/ihr/publications/who\\_hse\\_ihr\\_20100801/en/](http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_20100801/en/). 2012.
- WHO. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4
- WHO. Laboratory testing for novel coronavirus. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/LaboratoryTestingNovelCoronavirus\\_21Dec12.pdf](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/LaboratoryTestingNovelCoronavirus_21Dec12.pdf). 2012.
- WHO. MERS-CoV summary updates. [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/archive\\_updates/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/archive_updates/en/index.html)
- WHO. Revised interim case definition for reporting to WHO – Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV). [http://www.who.int/csr/disease/coronavirus\\_infections/case\\_definition/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/index.html)
- WHO and CDC. Technical guidelines for integrated disease surveillance and response in the African Region, 2nd ed. 2001.