

Indications et Modalités de gestion-réalisation des examens biologiques d'un patient atteint d'infection avérée à virus Ebola en France

Avis du 25 juillet 2014 - Synthèse et mise à jour au 20 novembre 2014

Groupe Bio Ebola - COREB SPILF*

Résumé - Synthèse de la recommandation

Indications et Modalités de gestion-réalisation des examens biologiques d'un patient atteint d'infection avérée à virus Ebola en France, mise à jour au 20 novembre 2014

Dans le contexte de l'extension de l'épidémie de maladie à virus Ebola (MVE) dans la région de Guinée Conakry, Sierra Leone, Liberia, et d'un travail de préparation initié par la Direction générale de la santé (DGS), il est apparu des incertitudes sur les indications et les modalités de réalisation de la biologie au cas où un patient était rapatrié pour une prise en charge en France. Un groupe de travail Bio Ebola - COREB (Coordination du risque épidémique et biologique [REB]) SPILF (Société de pathologie infectieuse de langue française) a été chargé par le DUS (Département des urgences sanitaires, saisine du 21 mai 2014) de produire une recommandation professionnelle multidisciplinaire opérationnelle (RPMO) répondant à ces incertitudes, s'appuyant sur l'avis du Haut Conseil de la santé publique (HCSP) du 10 avril 2014, la procédure du groupe COREB de la SPILF, et la réunion DGS du 23 avril 2014. En priorité, le champ en a été délimité au cas d'*un patient rapatrié atteint de MVE avérée*. L'objectif d'une RPMO était de concilier éléments théoriques et de réalité provenant du terrain. Aujourd'hui, ces recommandations valent également pour un patient dont le diagnostic est porté en France.

L'analyse qui a sous-tendu l'avis du 25 juillet a comporté une description des obligations réglementaires et des capacités existantes, identifié les conditions nécessaires à la prise en charge globale d'un patient MVE avérée, établi les indications réduites au strict nécessaire des examens biologiques en une liste hiérarchisée, et précisé les modalités de protection des personnels.

L'avis du groupe Bio Ebola du 25 juillet a constaté qu'afin de soigner un patient atteint de MVE avérée dans des conditions adaptées à la réalité et conformes aux règles de sécurité, il était indispensable de modifier en urgence l'arrêté du 16 juillet 2007 pour qu'en situation justifiée par l'état clinique du patient les examens biologiques minimaux nécessaires puissent être réalisés dans un laboratoire de niveau de confinement 3 (L3) avec PSM III ou PSM II (voire en biologie délocalisée pour certains examens), par des personnels formés et informés.

Au décours, l'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 » a donc prévu la possibilité d'une manipulation des échantillons provenant de ces patients en laboratoire L3 (NOR: AFSP1419373A).

Résumé - Synthèse de la recommandation

Indications et Modalités de gestion-réalisation des examens biologiques d'un patient atteint d'infection avérée à virus Ebola en France, mise à jour au 20 novembre 2014 (suite)

Depuis, l'état des lieux a conduit à désigner 11 ESR zonaux et l'HIA Bégin habilités (ESRH) à accueillir un patient atteint de MVE (dits ESR zonaux « Ebola ») et une mise en conformité cohérente des structures de soins et des laboratoires de ces ESR est en cours.

Aujourd'hui, la sobriété de prescription des examens biologiques reste impérative. Une liste indicative hiérarchisée en 3 niveaux (de zéro à 2) a été établie, allant de l'absence de tout examen (niveau 0) à une liste d'examens indispensables pour la prise en charge en réanimation (niveau 2), comprenant prioritairement NFS, frottis sanguin ou test de diagnostic rapide (TDR) du paludisme, créatininémie, transaminases, CRP, électrolytes sanguins, TP, ACT ou TCA si possible, gazométrie, lactates. La prescription d'hémocultures, d'intérêt important pour la prise en charge, mais de réalisation difficile dans les niveaux de biosécurité recommandés, doit résulter pour chaque patient d'une concertation entre clinicien et microbiologiste. D'autres mesures sont préconisées pour limiter le risque d'exposition au virus : séniorisation et concertation clinico-biologique sur la prescription des examens, sobriété en nombre et fréquence des prélèvements, stratégie globale des soins régulièrement ajustée à l'état clinique du patient et à la juste évaluation du rapport bénéfique (patient) - risque (personnel, collectivité). La dimension éthique de ces décisions est à prendre en compte du fait de l'absence de traitement curatif efficace validé à la phase aigüe de la maladie, de sa mortalité élevée, et des risques d'AES pour les personnels soignants et de laboratoires.

La gestion des examens biologiques d'un patient atteint de MVE avérée nécessite des mesures associées de protection individuelle (concernant le manipulateur), des mesures de confinement primaire (concernant l'espace spécifique de travail et les personnes au contact direct du prélèvement) et des mesures de confinement secondaire (concernant le local de travail dans son ensemble et la protection de la collectivité).

L'arrêté du 6 août 2014 autorise la manipulation de prélèvements contenant du virus Ebola provenant de patients avec MVE pour la réalisation des examens biologiques dans un L3 sous PSM III, ou à défaut sous PSM II. Le fonctionnement sous PSM III, à privilégier pour les actes à haut risque, comporte cependant des contraintes fortes et des risques liés à la maladresse si les personnels ne sont pas correctement formés et suppose une pratique régulière. Il sera difficile de l'envisager en dehors d'ESR désignés dont il sera vérifié la capacité à assurer dans la durée le maintien des compétences des personnels et l'efficacité opérationnelle des installations. Dans certaines situations où ces conditions ne seraient pas applicables (sites en cours d'équipement, équipements en état de dysfonctionnement ou de maintenance, personnels irrégulièrement entraînés), la réalisation en L3 équipé de PSM II, avec renforcement des mesures de protection des personnels, et procédures accessibles et adaptées apparaît alors comme une solution envisageable.

La réalisation des examens biologiques dans de telles conditions représente une démarche lourde et contrainte, ne pouvant répondre à tous les besoins en cas de soins urgents. La mise à disposition d'automates de biologie délocalisée dans la chambre du patient, sous tente pour une protection optimale du manipulateur et de l'environnement, est une mesure complémentaire qui doit être réservée *en cas d'urgence* (gazométrie artérielle, kaliémie et hémoglobininémie par exemple). Son usage impose la formation spécifique et l'entraînement des personnels, et doit y associer les biologistes au moins pour maintenance et validation adéquates des examens.

Résumé - Synthèse de la recommandation

Indications et Modalités de gestion-réalisation des examens biologiques d'un patient atteint d'infection avérée à virus Ebola en France, mise à jour au 20 novembre 2014 (fin)

Avis du groupe Bio Ebola, à jour au 20 novembre 2014:

Suite à la RPMO Bio Ebola, avis du 25 juillet et à l'arrêté du 6 août, la réalisation des examens biologiques médicaux d'un patient atteint de MVE avérée, réduits au strict minimum nécessaire, est désormais possible en laboratoire L3, équipés conformément à la réglementation : recommandée sous PSM III, en particulier pour les actes à haut risque, envisageable sous PSM II, en fonction du type d'examen effectué, avec séniorisation et renforcement des mesures de protection des personnels.

Dès lors, dans la démarche de préparation et de maintenance des ESR zonaux, il est recommandé :

1) d'assurer un équilibre adapté entre mise en conformité des équipements et mise à niveau des personnels et de leur protection. Dans le contexte des premiers cas exportés avec transmission secondaire hors d'Afrique, il devient prioritaire de mobiliser les moyens et de promouvoir les actions nécessaires pour que le nombre, du fait de la recommandation de travail en binôme de sécurité, la compétence des personnels, les conditions de travail soient adaptées à la réalité et conformes aux règles de sécurité : sensibilisation à l'analyse de risque (cf. recommandations du Royaume-Uni), accompagnement, formation, habilitation. Il est proposé qu'un renfort spécifique soit mis à disposition des services prenant en charge les patients et leurs prélèvements, de la médecine du travail et de l'hygiène hospitalière.

2) d'assurer le retour des états des lieux des ESR élaborés par les ARS zonales vers les professionnels de santé des ESR, afin de promouvoir une dynamique d'échanges réciproques entre responsables administratifs et acteurs de terrain. Le principe de partage des résultats d'autres démarches d'évaluation à venir doit être posé, car il est le garant de l'adhésion de tous à la construction réactive et cohérente d'un projet commun de prise en charge des patients et de protection de la collectivité.

Il paraît désormais indispensable de poursuivre le travail amorcé avec des objectifs bien identifiés et gradués dans le temps, et de s'engager dans une action de maintenance et d'adaptation de la conformité des ESR zonaux. Un cahier des charges des conditions de prise en charge doit être détaillé, et actualisé (à partir de l'arrêté du 30 décembre 2005). Une certaine flexibilité doit permettre, tout en respectant les grandes orientations, d'adapter la démarche générale aux capacités et compétences locales et à la réalité du phénomène épidémique, et d'ajuster les moyens techniques et en personnels. Une démarche de certification régulière doit y être associée.

Le présent travail doit contribuer à la préparation et aux recommandations concernant l'accueil et la prise en charge d'un nombre plus élevé de patients atteints de MVE avérée et de patients suspects. Pour cela, la notion d'expertise délocalisée des ESR, projetée au contact des patients, dans sa dimension clinique mais aussi biologique, doit être développée. Ce travail doit s'étendre à tous les ESR zonaux, puis à tous les ES et aux médecins libéraux.

Son développement devrait contribuer à une stratégie de préparation et de réponse sur le long terme à une crise sanitaire liée à une infection due à tout type d'agent infectieux de groupe 4 ou tout nouvel agent infectieux émergent.

** listé au chapitre G*

SOMMAIRE

Résumé et Synthèse de la Recommandation	p.1
Sommaire	p.4
A. Contexte	p.5
1- Rappel contexte et mission – Méthode de travail	
2- Connaissances sur l'agent pathogène	
3- Risque pour les personnels de santé et de laboratoire	
B. Conditions préalables nécessaires à l'accueil et la prise en charge d'un patient	p.7
C. État des lieux des structures	p.8
D. Indications des examens biologiques minimaux nécessaires	p.9
1- Recommandations des organismes internationaux	
2- Recommandations nationales - Avis du groupe	
E. Modalités de gestion - réalisation des examens biologiques	p.11
1- Contexte réglementaire	
2- Réalisation, acheminement et réception au laboratoire des prélèvements	
3- Adaptation des modalités de confinement au laboratoire et réalisation des examens biologiques	
F. Limites et perspectives	p.17
G. Groupe de travail et collaborations	p.19
H. Références	p.20
I. Annexes	p.22
1-Liste des ESR zonaux Ebola	
2-Principales caractéristiques des PSM de type I, II et III	
3-Équipements de protections individuelle (EPI)	
4-Conduite à tenir en cas d'accident exposant au sang ou aux produits biologiques (contact percutané et cutanéomuqueux)	
5-Réalisation des examens microbiologiques	
6-Avis du Centre National de Référence du Paludisme sur le diagnostic d'un accès palustre chez un patient porteur du virus Ebola	

A. CONTEXTE

1- Rappel contexte et mission

Contexte

L'émergence de maladie à virus Ebola (MVE) en Afrique de l'Ouest menace la sécurité sanitaire publique régionale et mondiale. Cette épidémie notifiée en mars 2014 en Guinée Conakry connaît une amplification depuis juin 2014 avec une extension au Liberia, en Sierra Leone, au Nigéria, puis au Mali. Au 9 novembre 2014, un total cumulé de 14098 cas dont 5160 décès avait été rapporté, (source : www.ecdc.europa.eu). Ces données témoignent d'une dynamique remarquable, avec persistance d'un haut niveau de transmission à partir du foyer d'émergence forestier inaugural et constitution de chaînes de transmission secondaires en périmètre urbain. L'épidémie actuelle de MVE est considérée comme la plus grave en termes de nombre de cas et de décès notifiés depuis la découverte du virus. Les principaux freins identifiés par les équipes sanitaires mobilisées sur place sont le manque d'équipements de protection individuelle (EPI), de Centres de Traitement Ebola, et la méfiance de la population envers les structures de soins et les messages émanant de sources officielles, générant des comportements irrationnels et contre-productifs, en particulier vis à vis de l'identification et du suivi des contacts et de l'exposition aux facteurs de risque de transmission.

La description des données épidémiologiques depuis mars 2014 atteste le tribut porté par le personnel de santé parmi les cas. Leur part était notable dans la période initiale de la crise et renvoyait à l'absence de risque repéré et donc évitable par adoption de mesures barrière en situation de contact avec des patients symptomatiques et contagieux. Elle a pu compter dans la constitution de chaînes d'amplification urbaine. Depuis juin 2014, en Guinée Conakry au moins, les mesures d'information (et de réglementation des pratiques) conduites auprès du personnel de santé n'ont permis qu'une réduction incomplète de la transmission dans ce groupe exposé. On dénombre un total de 433 soignants infectés par le virus Ebola depuis le début de l'épidémie, avec une létalité de 58 %.

Mission

Dans le contexte d'un travail de préparation initié par la DGS pour la préparation à la prise en charge d'un patient suspect ou atteint de MVE en France, il est apparu des incertitudes concernant les indications et modalités de réalisation de la biologie au cas où un patient était rapatrié pour une prise en charge en France (plan EVASAN). Un groupe de travail Bio Ebola a été chargé par le DUS de produire une recommandation professionnelle multidisciplinaire opérationnelle (RPMO) répondant à ces incertitudes, s'appuyant sur l'avis du Haut Conseil de la Santé Publique du 10 avril 2014, la procédure SPILF-COREB et la réunion conduite par le DUS le 23 avril 2014. En priorité, le champ en a été délimité au cas d'*un patient rapatrié atteint d'infection avérée à virus Ebola*. L'objectif d'une RPMO était de concilier éléments théoriques et éléments de réalité provenant du terrain. La RPMO a été rendue le 25 juillet au Département des Urgences Sanitaires et a entraîné une modification d'arrêté publié au Journal Officiel, le 6 août 2014.

Méthode de travail

Des experts représentant les disciplines concernées, infectiologues, réanimateurs, urgentistes, biologistes, microbiologistes, hygiénistes, et médecin du travail, ayant participé aux avis et discussions préalables et/ou impliqués dans la prescription/réalisation des examens biologiques ont participé au groupe. Vu le délai de réponse court attendu, l'analyse de terrain s'est appuyée sur trois sites ciblés par le DUS à titre d'exemples, l'hôpital d'instruction des armées (H.I.A.) Sainte-Anne à Toulon, l'hôpital Bichat à Paris, et l'hôpital de La Croix Rousse à Lyon, et en préalable à une enquête nationale de recensement des moyens des autres sites zonaux (annexe). Dans une première étape, à partir d'une analyse succincte de la littérature incluant les textes réglementaires, et de leur expérience, chacun a été chargé de contribuer avec son expertise, à la construction d'une version préliminaire de la RPMO. La seconde étape a consisté en une relecture critique ouverte avec interactions croisées interdisciplinaires entre les membres du groupe, avec des relecteurs extérieurs pertinents et les sociétés savantes et autres institutions concernées. Au décours du 25 juillet 2014, un important travail de mise à niveau a été entrepris par la DGS et la

DGOS avec chaque ESR en lien avec les ARS de zone. Une réunion du groupe de travail et des infectiologues et réanimateurs des ESR zonaux s'est tenue le 17 septembre 2014, suivie d'un nouveau travail de correction, relecture, intégration - synthèse.

Il reste essentiel de souligner que les incertitudes sur certaines données scientifiques, et les constantes évolutions des données locales, imposent d'intégrer à cette analyse ainsi qu'à ses conclusions une marge de flexibilité et une actualisation permanentes.

2- Connaissances sur l'agent pathogène

- Il s'agit d'un agent infectieux de groupe 4.
- La concentration virale est élevée dans l'ensemble des liquides biologiques (jusque 10^7 unités/ml sang).
- En termes de survie et de résistance dans l'environnement, il persiste certaines incertitudes. Certes il s'agit d'un virus enveloppé assez fragile ; la survie pourrait cependant être de quelques heures (collègues canadiens) à plusieurs jours (avis CNR Lyon) sur un support solide.
- Il n'y a pas de traitement antiviral efficace validé.

3- Risque pour les personnels soignants et de laboratoire

La MVE fait courir un risque important aux soignants et aux autres personnels de santé qui prennent en charge les cas. La gravité de l'infection en cas de contamination accidentelle est à souligner. En effet, en Afrique de l'Ouest au 12 novembre 2014, on recensait 566 cas d'Ebola (dont 321 décès) chez des personnels de santé.

Le pronostic de la maladie peut probablement être amélioré par l'administration de médicaments (traitement de co-morbidités, de paludisme suspecté ou prouvé, de co-infections bactériennes...) et la correction des désordres hydro-électrolytiques et hémorragiques par des traitements administrés par voie veineuse ou orale, guidés par les résultats d'examen biologiques ; ils peuvent permettre de franchir le cap « aigu » de la maladie (durée de contagiosité et d'infection de l'ordre de 7 et 11 jours respectivement). Le bénéfice apporté aux patients doit être mis en balance avec le risque pris par les soignants et les techniciens de laboratoire.

La transmission du virus se fait principalement par contact cutanéomuqueux, direct ou indirect (projection sur muqueuses ou peau lésée, piqûre, coupure) avec :

- les sécrétions et liquides biologiques du patient (salive, sang, dont hémoptysie, vomissements, diarrhée par exemple) ;
- les échantillons biologiques (risque classique d'AES) ;
- les déchets ou effluents issus des étapes analytiques ;
- des surfaces contaminées par les échantillons biologiques.

La capacité à pénétrer la peau saine est inconnue ; si elle est hautement improbable, elle ne peut être exclue. Jusqu'à progrès des connaissances, le principe de précaution mérite peut-être d'être ici appliqué.

Après que la question ait été longtemps débattue, aucune preuve d'une transmission aéroportée n'a été apportée par l'analyse des épidémies précédentes et, ni l'OMS, ni aucune recommandation internationale ne prend en compte cette éventualité. Seule une publication sur modèle animal datant de 1995 évoque cette hypothèse sans y apporter d'éléments convaincants.

Par contre il existe une possibilité de transmission par projection de particules fines de liquides biologiques contaminés (y compris la salive) lors des soins ou de manipulations, type centrifugation, ouverture de tubes, pipetage, si ces projections sont suivies d'un contact avec les muqueuses buccales, nasales ou oculaires.

La durée d'incubation est de 2 à 21 jours et la période de contagiosité s'étend principalement pendant la phase symptomatique, mais la détection prolongée de matériel génétique viral après cette phase symptomatique dans différents fluides biologiques (urines, sperme, sécrétions vaginales) incite à la prudence pour les jours et même les 6 à 8 semaines qui suivent la disparition des symptômes.

Ces données conduisent à proposer des mesures barrières maximales pour les personnels de santé amenés à être en contact avec les malades et leurs produits biologiques, l'objectif étant d'éviter tout contact cutané ou muqueux avec le patient et ses sécrétions et liquides biologiques : protection par couverture totale de la peau et des muqueuses, complétée des mesures de confinement adaptées (chambre avec sas), laboratoire équipé de PSM pour la manipulation des échantillons. Les personnels les plus exposés sont ceux qui sont en contact direct avec les patients, d'autant plus s'il existe des phénomènes hémorragiques, une diarrhée liquide et des vomissements abondants. Ceci impose de vérifier l'étanchéité des tenues, la protection de l'ensemble du visage et particulièrement des muqueuses buccale et oculaires et d'imposer des pratiques strictes pour l'élimination des déchets.

B. CONDITIONS NECESSAIRES A L'ACCUEIL ET LA PRISE EN CHARGE D'UN PATIENT

Il s'agit de conditions optimales théoriques. Elles devraient être déclinées au contact des réalités locales et de l'expérience des premiers patients pris en charge en France. Les sites susceptibles d'accueillir ces patients devraient être des structures de référence zonales civiles ou du service de santé des armées permettant sur le même lieu (avec des circuits courts) un double niveau de prise en charge en hospitalisation de type services de maladies infectieuses (SMIT) et de réanimation, et un laboratoire avec des équipements en conformité avec la réglementation. Échanges et harmonisation des procédures réguliers entre les sites concernés sont indispensables.

Le cahier des charges de ces structures comporte les critères suivants :

- Disposer d'un secteur de soins facilement "isolable " avec poste de soins dédié :
 - o organisation *a priori* = procédures d'utilisation de ce secteur écrites (et testées), favorisant les circuits courts et directs... ;
 - o chambre(s) de taille suffisante avec sas indispensable : au mieux double sas pour la séparation des actions d'habillage et de déshabillage. Un gradient de pression négative doit être entretenu du couloir vers la chambre. La chambre doit être en pression négative avec système de traitement d'air performant (air neuf, taux de renouvellement horaire, cinétique de décontamination particulière...) dont les caractéristiques aérauliques sont maîtrisées ; les portes sont motorisées et asservies avec consigne d'ouverture-fermeture ;
 - o EPI nécessaires disponibles choisis en fonction de l'évaluation des risques (cf. annexe) ;
 - o gestion des effluents et des DASRI (évacuation dans une cuve éliminable selon un circuit spécifique permettant l'inactivation des effluents) pour les laboratoires et les services de soins. La gestion des effluents infectieux soulève des aspects réglementaires spécifiques qui n'ont pu être tous abordés ici. L'avis du HCSP du 10 septembre 2014 apporte des précisions relatives aux modalités de gestion des excréta, fluides biologiques et DASRI issus de patients suspects, possibles ou confirmés de MVE.
- Disposer dans chaque site d'une Cellule de Coordination Opérationnelle du Site (CCOS Ebola) indispensable avec référents clinique, hygiéniste et biologiste (au moins un virologue), médecin du travail et représentant de la direction, identifiés à l'avance.
- Avoir une liste d'astreintes des cliniciens et des biologistes susceptibles d'être mobilisés en cas d'alerte.
- Entretenir des équipes de soins et de biologistes dédiées, clairement averties des risques inhérents à leur poste au moment de leur recrutement (pas d'internes, ni étudiants, CDD, intérimaires) et en nombre limité. Elles doivent être formées aux risques en pathologies

infectieuses, aux techniques d'habillage et de déshabillage (retrait soigneux des EPI pour ne pas se contaminer ou contaminer son environnement) avec exercices pratiques réguliers. Tout le personnel impliqué, de soins et de laboratoire, doit être formé, habilité, et expérimenté.

- Recommander un travail systématique en binôme : une supervision ou vérification croisée du bon respect des règles de protection doit être effectuée avant l'entrée, durant l'activité des soignants dans la chambre et jusqu'au déshabillage. Au laboratoire, le personnel désigné pour la manipulation des échantillons fonctionne aussi en binôme, de préférence, un opérateur en PSM et un aide opérateur hors PSM.
- Assurer une traçabilité des personnels en contact avec le patient ou les prélèvements : une liste sera établie et transmise, si besoin, au médecin du travail
- Établir et diffuser un document spécifique de conduite à tenir en cas d'accident exposant au sang et aux produits biologiques (AES) (cf. annexe)
- Disposer d'un stock de traitement spécifique adapté pour les AES (arrêté du 18 septembre 2014, avis HCSP en cours)

C. ETAT DES LIEUX DES STRUCTURES DES ESR

La connaissance des structures était un pré-requis à l'élaboration d'une RPMO adaptée à la réalité des capacités d'accueil et de prise en charge.

Un premier état des lieux des ESR réalisé au mois de juillet a comporté :

- la cartographie des chambres adaptées (chambre seule, avec sas, et pression négative contrôlée) des SMIT des établissements de santé référents (ESR) zonaux, validée par le DUS. Une analyse approfondie devrait préciser si les chambres disposent d'un sas unique ou d'un double sas, permettant la « marche en avant », et des conditions appropriées d'évacuation des déchets et effluents ;
- la cartographie des chambres adaptées (seule, sas, pression négative contrôlée) des services de réanimation ;
- la description des capacités des laboratoires des sites correspondants ;
- la caractérisation de la liaison géographique entre SMIT, réanimation et laboratoire de biologie.

Suite à cette analyse, un important travail interne de mise à niveau a été entrepris dans chaque ESR. Les principales difficultés portaient principalement sur la réalisation des examens biologiques et la formalisation du parcours de soin du patient.

Le travail de préparation entrepris par les ESR a notamment porté sur :

- l'information et la formation des personnels (CME, CTE, CHSCT, plan de formation,...) ;
- la formalisation du parcours du patient et les procédures qui en découlent ;
- l'organisation de l'hospitalisation en SMIT et en réanimation ;
- la prise en compte de la pédiatrie et de l'obstétrique ;
- la réalisation des examens de biologie ;
- la gestion des DASRI.

Une réunion téléphonique a été organisée début septembre par la DGS et la DGOS avec chaque ESR en lien avec les ARS de zone pour établir un bilan de l'état de la préparation et des actions mises en œuvre.

Pour accompagner ces établissements dans leur démarche de préparation, un plan d'équipement est actuellement mis en œuvre par la DGOS et porte notamment sur l'acquisition :

- de PSM III dans les laboratoires L3 ;
- d'automates de biologie courante ;
- d'échographes portatifs, ou de poste de radiologie mobile pour la prise en charge des patients.

A ce jour, les établissements figurant sur la liste arrêtée au 25 août 2014 (annexe) sont maintenant tous opérationnels ou en cours de l'être pour assurer la prise en charge de patients cas possibles et confirmés de maladie à virus Ébola.

Des difficultés sont toutefois à prendre en compte pour la gestion des DASRI : aucun de ces établissements n'est actuellement en mesure d'autoclaver les DASRI à l'exception du CHU de Nancy (préconisation d'inactivation avant incinération recommandée par le HCSP au 10 septembre 2014). À noter aussi l'absence d'incinérateur dans certains territoires comme l'île de La Réunion.

En ce qui concerne les DOM, le CHU de La Réunion figure sur la liste actuelle des ESRH. Par contre l'ESR des Antilles (CHU de Martinique) et l'ESR de Guyane (CHU de Cayenne) présentent actuellement des difficultés structurelles liées à la fonctionnalité des chambres à pression négative. Toutefois, ces établissements se sont mobilisés pour assurer, dans de bonnes conditions, la prise en charge de patients cas possibles de maladie à virus Ébola avant un transfert vers un ESR de métropole en cas de confirmation du diagnostic.

Dans l'attente des travaux de mise à niveau des capacités d'isolement (chambres à pression négative), ces établissements ont vocation à assurer la prise en charge des patients cas possibles de maladie à virus Ébola avant un transfert vers un ESR de métropole en cas de confirmation du diagnostic.

D. INDICATIONS DES EXAMENS BIOLOGIQUES MINIMAUX NECESSAIRES

1- Recommandations des organismes internationaux :

- L'OMS et l'ECDC rappellent que plusieurs types de tests permettent de poser le diagnostic définitif des infections à virus Ebola au laboratoire :
 - o titrage immunoenzymatique des anticorps (ELISA) ;
 - o détection de l'antigène ;
 - o test de séroneutralisation ;
 - o amplification génique précédée d'une transcription inverse (RT-PCR) ;
 - o microscopie électronique ;
 - o isolement du virus sur culture cellulaire.

- Pour les examens biologiques les deux institutions indiquent que :
 - o les échantillons provenant des patients s'associent à un risque biologique extrême et les analyses ne devraient être exécutées que dans les conditions de confinement les plus rigoureuses possible ;
 - o le diagnostic et le traitement des infections concomitantes et des surinfections, notamment paludisme et fièvre typhoïde, est un des aspects important de la prise en charge des patients.

Par ailleurs, le CDC et l'IDSA recommandent que les examens biologiques nécessaires à la bonne prise en charge du patient, incluant de l'hématologie, de la biochimie ou autres, soient réalisés en nombre limité et de façon sécurisée.

2- Recommandations nationales

2.1 Avis du HCSP du 10 avril et du 10 septembre 2014 relatifs à la conduite à tenir autour des cas suspects de MVE :

Dans la perspective de la prise en charge parallèle des diagnostics différentiels devant un cas « possible » de MVE, il mentionne : « Il est donc nécessaire de pouvoir disposer des examens biologiques suivants : NFS/plaquettes, frottis/goutte épaisse ou test de diagnostic rapide

paludisme, CRP, transaminases, hémocultures, bandelette urinaire et si possible un bilan de coagulation. »

2.2 Avis du groupe Bio Ebola, 25 juillet, à jour 19 novembre 2014

Le but étant de limiter au maximum la manipulation de ce type de prélèvement, il est proposé d'en limiter les prescriptions aux stricts besoins et pour cela d'établir la liste hiérarchisée des examens biologiques nécessaires à la prise en charge d'un patient Ebola « confirmé ». Cette approche est complétée d'autres mesures qui peuvent contribuer à limiter le risque d'exposition des personnels.

2.2.1- Liste hiérarchisée des examens biologiques

Les examens visent à rechercher des co-morbidités, des complications, à évaluer la gravité et à détecter une possible co-infection pour ajuster la thérapeutique. Une présentation en 3 niveaux a été proposée, allant de l'absence de tout examen à un optimum plus étendu, intégrant des examens indispensables et d'autres qui seraient souhaitables mais pas impératifs s'ils ne peuvent être pratiqués en toute sécurité. Le niveau de prescription tient compte de la réalité des capacités du terrain (cf. État des lieux), des recommandations actuelles, de l'état clinique du patient et de la stratégie de soins.

Niveau 0 : aucun prélèvement.

Ce niveau correspond à la réalité du terrain locale en Afrique de l'Ouest, et des laboratoires de biologie de certains sites autres que les ESR ne répondant pas aux contraintes réglementaires actuellement en vigueur, susceptibles d'accueillir un patient suspect de MVE en France.

Niveau 1 : NFS-plaquettes, biochimie comprenant ASAT/ALAT, créatininémie, électrolytes sanguins, glycémie, CRP. Hémocultures, coproculture, voire ECBU sont de réalisation difficile dans les niveaux de biosécurité recommandés (priorisation et indications mesurées après concertation entre clinicien et microbiologiste sont recommandées). Un frottis sanguin ou un TDR pour le paludisme selon les conditions de sécurité biologiques locales, doit être effectué si le paludisme n'a pas été écarté au préalable lors du diagnostic initial Ebola ; la goutte épaisse est proscrite (cf. annexe avis du CNR du Paludisme).

Ce niveau correspond à un patient MVE hospitalisé en SMIT référent, qui ne présente pas de signes de gravité.

Niveau 2 : Bilan niveau 1, auxquels sont ajoutés : TP-ACT (ou TCA), gazométrie artérielle, CPK, lactate, troponine, calcémie, biologie moléculaire éventuellement, tests diagnostiques rapides dengue et VIH; pour la bactériologie conventionnelle pour cathéters centraux, LCR, prélèvements respiratoires à l'aveugle (PDP, aspirations trachéales quantitatives) mêmes réserves que pour hémocultures. Pour des transfusions répétées, une détermination unique de groupe ABO.RH1 et de phénotype RH.KEL1 sur un seul prélèvement, sans RAI, pourra être effectuée, avec vérification au lit du malade du culot globulaire uniquement.

Ce niveau correspond à un patient MVE avec signes de gravité, hospitalisé en service de réanimation référent.

2.2.2- Autres propositions

- Le nombre d'examens et la fréquence des prélèvements prescrits doivent être aussi limités que possible.
- La prescription médicale doit donc être assurée par un senior expert.
- Elle doit faire l'objet d'une discussion pluridisciplinaire préalable, associant au moins le clinicien responsable du patient et le biologiste responsable de l'examen, avec une préoccupation permanente de la juste évaluation du rapport bénéfice - risque ou avantages - inconvénients.

Cette approche est particulièrement considérée pour certains examens que souhaiteraient pouvoir prescrire les réanimateurs mais ne paraissant pas faisables en l'état des capacités, à ce jour : hémostasie fine, fibrinogène, facteur V, Ionogramme urinaire, et pour des examens dont le bénéfice paraît incertain, bilirubine, phosphatases alcalines, gamma-GT.

- Ces décisions difficiles doivent être régulièrement ajustées à la stratégie globale des soins, elle-même régulièrement ajustée à l'état clinique et aux attentes du patient, en y associant selon son souhait ses proches. Elle peut aller d'une stratégie dite « palliative » visant en priorité le confort du patient et le soulagement des symptômes qu'il perçoit (douleur, anxiété, dépression), à une stratégie plus active cherchant à limiter la réplication virale ou à stimuler la réponse de l'hôte. Dans la mesure où il n'existe pas de traitement curatif validé, la possibilité de tester ce type de thérapeutique ou de l'appliquer de manière empirique ou compassionnelle, pose la question du lien soin-recherche et la mise en place d'une activité de recherche clinique ou thérapeutique est souhaitable. Dans ce cadre, les obligations de protection de l'individu en matière de bonnes pratiques de recherche clinique sont de mise. Elles concernent le droit à l'information éclairée, la signature du consentement éclairé ainsi que le droit au retrait de la part du patient ou à défaut de ses ayant droits.
- La dimension éthique de ces décisions est à prendre en compte, compte tenu de la létalité élevée de la maladie. Le passage en réanimation ou le projet de soin dans le contexte prévisible d'une admission directe en réanimation en est un des aspects. A cette intention, un groupe transversal issu du service de réanimation et élargi à au moins l'infectiologue référent de la CCS doit être convoqué pour conduire la discussion sur la légitimité de prévoir pour les patients les plus graves le support des différentes défaillances d'organe, même en l'absence de traitement antiviral efficace, ou l'orientation vers l'allègement du soin.

E. MODALITES DE GESTION-REALISATION DES EXAMENS BIOLOGIQUES

1- Contexte réglementaire

L'arrêté du 16 juillet 2007 fixant les mesures techniques de prévention, notamment de confinement, à mettre en œuvre dans les laboratoires de recherche, d'enseignement, d'analyses, d'anatomie et cytologie pathologiques, les salles d'autopsie et les établissements industriels et agricoles où les travailleurs sont susceptibles d'être exposés à des agents biologiques pathogènes (NOR : *MTST0756429A*) et textes afférents (décret n° 2010-736 du 30 juin 2010) impose que les examens biologiques soient effectués en installations de niveau de confinement 4 pour les agents infectieux de groupe 4.

Depuis, **l'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'examens biologiques pour les patients atteints d'infection avérée à cet agent », prévoit la possibilité d'une manipulation des échantillons provenant de ces patients, en laboratoire de niveau de confinement 3 (NOR: AFSP1419373A).**

Art. 1er. – A titre dérogatoire, la réalisation d'examens 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 microbiologique 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 microbiologique 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.

Art. 2. – L'établissement de santé met en œuvre, dans tous les locaux dédiés à la prise en charge des patients atteints d'infection avérée au virus Ebola, un périmètre de sécurité afin d'empêcher toute intrusion.

Art. 3. – Les dispositions du présent arrêté sont levées par un arrêté des ministres chargés de la santé et du travail dès lors qu'elles ne sont plus justifiées.

Art. 4. – Le directeur général de la santé, le directeur général du travail, les directeurs généraux des agences régionales de santé et le directeur général de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé sont chargés, chacun en ce qui le concerne, de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

2- Réalisation, acheminement et réception au laboratoire des prélèvements

2.1 Modalités de réalisation des prélèvements dans la chambre :

Sources : Modalités prise en charge patient : avis du HCSP 10 avril 2014 complété par l'avis du 10 septembre 2014.

- Prévenir le(s) laboratoire(s) avant de réaliser le(s) prélèvement(s) biologique(s) afin que ceux-ci soient attendus, que leur prise en charge ne soit pas différée par les mesures de protection supplémentaires requises, et que les échantillons ne soient pas distribués dans plusieurs secteurs de biologie sans que les mesures de précautions ne soient en place.
- Vigilance renforcée vis-à-vis du risque d'AES. Utiliser exclusivement du matériel sécurisé et adapté aux risques encourus en ayant préalablement assuré une formation des professionnels de santé à leur bonne utilisation
- Prise en charge en termes de mesures d'hygiène, selon avis HCSP cités ci-dessus
- Procédure de changement des gants maîtrisée et comprise. Après le prélèvement des échantillons, la première paire de gants doit être changée avant mise des tubes dans les emballages
- Désinfecter les tubes avec une solution d'eau de Javel avant la sortie de la chambre. Premiers emballages des prélèvements dans la chambre.
- Dernier emballage lors de la sortie de la chambre dans le sas => triple emballage de type P620, code UN 2814, conservé dans une glacière dans le sas. Un renfort en emballages disponibles au sein de l'hôpital pour les matières infectieuses de catégorie A est indispensable.

2.2 Modalités d'acheminement des prélèvements

- Laboratoire averti de l'arrivée imminente d'échantillons pour organiser la prise en charge
 - o Acheminement au CNR :
Les prélèvements sont mis sous triple emballage (instruction d'emballage P 620), pris directement en charge à la sortie du sas de la chambre du malade par le transporteur agréé puis acheminement au CNR après qu'une concertation entre le clinicien prenant en charge le patient et le CNR ait été organisée. Les sociétés de transport répondant à l'accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route sont agréées pour prendre en charge les prélèvements biologiques de catégories A et B. Elles doivent assurer le transport 24h/24. Le transporteur doit disposer d'un conseiller à la sécurité. Les échantillons avec matière infectieuse de catégorie A ne peuvent pas être acheminés par la Poste. Il doit exister un cahier des charges entre le donneur d'ordre et le transporteur. Quel que soit le mode d'acheminement, le transport doit être dédié et suivre l'itinéraire le plus rapide déterminé en accord avec l'expéditeur. Il est à noter que pour cet envoi de catégorie A, la lourdeur administrative peut justifier d'un transit par le laboratoire pour en assurer la bonne traçabilité.
 - o Acheminement vers le laboratoire de biologie de l'établissement
Transport en triple emballage du service au L3 en période ouvrée ou à la réception centralisée en période de permanence des soins, manuel par un coursier dédié et informé du service. Pas d'utilisation de pneumatique pour le transport des prélèvements, ni transport par le brancardage.

2.3 Modalités de réception et gestion immédiate au laboratoire :

- Les personnes prenant en charge les prélèvements doivent revêtir des EPI recommandés pour la manipulation des échantillons
- Après introduction des échantillons emballés dans le L3 pour analyse, le triple emballage est ouvert sous PSM (cf. annexe PSM). Procéder à une décontamination du contenant des échantillons visant à minimiser le risque de transmission du virus via les tubes, pots ou flacons contenant les échantillons
- Pour les opérations de centrifugation, le remplissage des nacelles doit se faire sous PSM. Après centrifugation, l'ouverture des nacelles et des tubes doit se faire également sous PSM après avoir respecté un délai de 10 minutes après la fin de la centrifugation.

3- Adaptation des modalités de confinement au laboratoire et réalisation des examens biologiques

Dans le contexte de la présente saisine, concernant un rapatriement d'un patient MVE avéré, les propositions pour les modalités de confinement permettant de réaliser des examens biologiques reposent sur l'analyse des données disponibles (y compris dans les autres pays) et prennent en compte l'adaptation aux capacités identifiées dans les trois sites étudiés.

3.1 Modalités de confinement

L'arrêté du 6 août 2014 autorise, à titre dérogatoire, la manipulation des échantillons de patients atteints d'infection avérée à Ebola, en laboratoire de niveau de confinement 3, équipé d'un PSM III ou, à défaut, d'un PSM II.

L'avis du HCSP du 10 septembre 2014 recommande de préférer l'utilisation d'un PSM III à celle d'un PSM II. La réalisation de l'ensemble des analyses sous PSM III, nécessite un PSM de grande taille, pas toujours adapté aux locaux des L3 existants. Des procédures de travail sous PSM II pour les laboratoires non équipés ou pour certaines techniques non réalisables sous PSM III par manque de place figurent en annexe.

3.2 Adaptations proposées - Avis du groupe de travail

Tenant compte notamment de la recommandation élaborée par les collègues du Royaume-Uni actualisée en septembre 2014, les propositions suivantes sont envisagées.

3.2.1. Confinement

Il est souhaitable de travailler en L3 avec EPI renforcés et optimisés, avec un PSM répondant aux normes de sécurité microbiologique pour le traitement des examens biologiques d'un patient avéré Ebola, notamment ceux nécessitant l'ouverture de tubes.

- L'option optimale au plan sécuritaire est de travailler en L3, dans un PSM III, en particulier pour les actes à haut risque. Elle se heurte cependant à diverses contraintes (cf. ci-dessus). La manipulation des prélèvements nécessite une formation et un entraînement régulier de la pratique de ces procédures. Les gants entraînent une certaine maladresse. La maintenance des équipements, la formation et la pratique régulières des personnels nécessitent des procédures spécifiques et des moyens pérennes qui restent à définir. Par ailleurs, peu de laboratoires hospitaliers disposent actuellement d'un tel équipement strictement conforme. La situation est voisine dans la plupart des autres pays européens.
- La réalisation en L3 équipé de PSM II est conforme à l'arrêté du 6 août 2014 et l'avis du HCSP. Certains experts ont proposé qu'un PSM I, ayant un niveau de protection considéré équivalent à un PSM II soit une solution envisageable en cas de nécessité impérieuse,

mais la réglementation n'a pas repris cette proposition. La possibilité de réaliser certains examens biologiques dans des laboratoires L2 a été évoquée par certains sous certaines conditions (laboratoire dédié, personnel formé, procédures spécifiques formalisées, inactivation du virus dans les échantillons...), une réflexion doit être poursuivie sur ces questions. Dans tous les cas, le renforcement des mesures de protection des personnels avec procédures accessibles et adaptées, en fonction du type d'examen effectué, et séniorisation à chacune des étapes des processus analytiques sont recommandés.

☞ Une action globale de mise en conformité est en cours au moins dans un nombre limité de sites, de laboratoires L3 avec PSM équipés de façon adéquate, en proximité et en cohérence avec l'équipement des chambres du SMIT et de réanimation pour les soins des patients. Il importe de choisir un PSM conforme à la norme NF EN 12469, qui sera régulièrement contrôlé et entretenu.

☞ *Une approche de type analyse de risque devrait permettre de mieux moduler et/ou adapter les équipements et conditions de travail au bénéfice commun du patient, des personnels et de l'environnement.*

3.2.2 Réalisation des examens

Toutes les exigences réglementaires de manipulation d'agents pathogènes en laboratoire L3 doivent être respectées et renforcées par des mesures supplémentaires.

Les modalités de réalisation des analyses sont les suivantes :

- Les biologistes seniors de garde et de chaque laboratoire des spécialités concernées auront été prévenus au préalable de l'envoi des prélèvements.
- Le personnel missionné pour travailler en laboratoires L3 aura été formé préalablement et les analyses seront effectuées par 2 opérateurs : un opérateur qui travaille dans le PSM et un aide-opérateur hors PSM.
- La réalisation du diagnostic par PCR, en cours de diffusion dans les laboratoires en conformité des ESRH, doit faire l'objet, en cas de résultat positif, d'une confirmation par le CNR Fièvres hémorragiques virales (contact préalable), indispensable si elle n'est déjà faite.
- Chaque fois que possible, les examens doivent être effectués après inactivation du virus.
- L'hémogramme (formule approchée), est réalisable sur des automates à tubes fermés, pouvant être positionnés hors PSM en prenant cependant soins à la gestion des déchets. TP, INR, ACT ou TCA, semblent réalisables. A notre connaissance, il semble difficilement possible de proposer le dosage du fibrinogène, du Facteur V. La recherche des D Dimères en technique rapide est envisageable, son utilité à débattre.
- En cas de transfusions répétées, une détermination unique de groupe ABO.RH1 et de phénotype RH. KEL1 sur un prélèvement avec vérification au lit du malade du culot globulaire uniquement est possible. La réalisation des RAI n'est pas possible.
- ☞ *En cas d'urgence vitale immédiate transfuser en sang O Rhésus négatif*
- Dans le contexte hémorragique et hémolytique, il importe de s'assurer que les paramètres dosés n'interfèrent que peu avec l'hémolyse (créatinine enzymatique par exemple).
- Pour ce qui concerne le diagnostic de co-infections virales, les TDR dengue et éventuellement VIH semblent envisageables. Toutefois ces recherches ne changeant pas la prise en charge, leur utilité est discutable.
- Les conditions particulières de réalisation de la microbiologie figurent en annexe. La détection des micro-organismes responsables de co-infections par méthodes moléculaires est susceptible de réduire les mises en culture plus difficiles en ce contexte. A cette fin, la détection la plus large de virus, bactéries, et levures par amplification génique (éventuellement suivie d'un séquençage de nouvelle génération) limiterait le travail analytique en milieu confiné L3/PSM et permettrait une meilleure observance du personnel technique.

- On ne doit pas réaliser d'autopsie chez un patient décédé d'une fièvre hémorragique à virus Ebola. Il est à noter que, selon l'article 5 de l'arrêté du 16 juillet 2007, les autopsies et examens d'anatomie et de cytologie pathologiques sur des patients atteints par un agent du groupe 4 sont réservées aux activités de recherche et sont strictement limitées aux cas présentant un grand intérêt pour la santé publique, et ces autopsies sont réalisées dans des salles de niveau de confinement 4 qui n'existent pas à ce jour en France.

3.2.3 Positionnement des automates directement dans la chambre à pression négative en réanimation du patient Ebola

Les évolutions technologiques permettent d'envisager un équipement de biologie délocalisée dans des chambres à pression négative accueillant un patient MVE. Il peut être proposé en appoint dans des situations exceptionnelles où l'instabilité clinique du patient nécessiterait la réalisation de bilans biologiques rapprochés urgents (le confinement étant moindre que dans un PSM en L3).

Les intérêts résident dans :

- l'absence de risque lié au transport ;
- un délai de rendu des résultats bien plus rapide qu'en L3, avec une meilleure maîtrise de la phase pré-analytique, grâce à un circuit court notamment pour les gaz du sang (le délai entre le prélèvement et la réalisation de l'analyse en L3 -incluant la désinfection des tubes, l'emballage, le transfert, l'habillage, les procédures d'entrée, la stabilisation des PSM, etc.- pouvant atteindre 1h30 à 2h). Ces matériels pour examens au lit du malade (appelés « point of care testing (POCT) ») possèdent déjà les connexions et les possibilités de transfert des données numériques sur le réseau internet hospitalier et vers le système de gestion informatique du laboratoire (Bluetooth pour l'édition des résultats extemporanément dans la chambre et Wifi). Cette orientation limite la possibilité de saturation du laboratoire confiné ;
- la possibilité de répéter des bilans (type gaz du sang) ;
- la possibilité de tests type TP ACT pas toujours disponibles dans les L3 qui ne peuvent installer un nombre d'automates importants.

La mise en œuvre de la biologie délocalisée « POCT » devrait alors se soumettre aux mesures suivantes :

- gestion des prélèvements sur des automates installés sous tente plastique de protection type CaptairPyramid®, en s'assurant de la bonne stabilité du socle ;
- analyse des prélèvements par un médecin biologiste ou technicien de laboratoire s'ils sont disponibles, dans la chambre du patient, sinon réalisation par des personnels soignants (IDE ou médecins) si et seulement si ils ont été régulièrement formés et entraînés et habilités par le laboratoire de biologie ;
- utilisation d'appareils de type Istat® permettant une analyse biochimique avec gazométrie et troponine ainsi que TP-TCA, Hemocue® et Glucotest® pour mesure de l'hémoglobine et glycémie capillaire est donc envisagé ;
- validation quotidienne des résultats par un binôme médecin - biologiste et maintenance des automates par un binôme technicien de laboratoire - biologiste.

Les contraintes techniques et le risque d'AES pour un personnel non habitué à réaliser ce type d'examen en réanimation doivent être évalués.

☞ En résumé, en cas d'extrême urgence, cette possibilité pourrait être utilisée en appoint pour la gazométrie artérielle, ainsi que pour les dosages de kaliémie et d'hémoglobinémie, à la condition que les personnels aient été formés et entraînés.

3.3 Aspects organisationnels - Logistique :

3.3.1 Gestion des automates

- Les automates doivent être qualifiés et calibrés dans le PSM avant leur utilisation.
- Certains automates (ABL90 radiometer) à fluide nécessitent des entretiens et maintenance réguliers dont la faisabilité sous PSM III n'est pas totalement vérifiée à ce jour.
- L'automate Piccolo (SYSMEX) dosant la biochimie à partir d'un tube ouvert ne présente pas les mêmes inconvénients car ce système est adapté à la problématique du « POCT » et ne possède pas de systèmes fluidiques contraignants. Les déchets sont de petite taille et peuvent être facilement confinés.
- Les règles d'évacuation des déchets liquides isolés mais non confinés à l'intérieur d'une cassette automate suivront la procédure décrite en 3.3.2.
- La nécessité d'avoir des outils (tournevis et pinces) à l'intérieur du PSM a été soulevée.

Des moyens devraient être affectés pour étudier la possibilité de connexion informatique de ces automates depuis le PSM par liaison sans fil, pour la transcription des résultats. Ceci apporterait beaucoup à la sécurisation de ce système, à la protection des personnels et à une diminution possible des interventions dans ce confinement. En l'absence de connexion informatique, le recopiage des résultats lus à travers la paroi du PSM est la seule réalisable mais source d'erreur. Les recommandations actuelles du HCSP ne disent pas s'il est possible de réaliser des examens biologiques hors PSM si la technique est faite à tubes fermés.

3.3.2 Modalités de gestion des déchets et effluents du laboratoire :

Les déchets d'hôpitaux contenant des matières infectieuses de la catégorie A correspondent à des déchets ONU 2814 c'est-à-dire des déchets contenant des agents biologiques provoquant une invalidité permanente ou une maladie mortelle / potentiellement mortelle pour l'homme.

Le virus Ebola étant un micro-organisme de groupe 4, un circuit spécifique doit être organisé pour les DASRI générés par la prise en charge d'un patient FVE avérée. Cette question a été traitée par le HCSP dans son avis du 10 septembre 2014 et n'a pas été reprise ici.

3.3.3 Délais de rendu et périodicité des examens

Sur le plan du délai de rendu, entre le temps du prélèvement et le rendu analytique, un bilan biologique comprenant biochimie simple, hématologie limitée, sans bactériologie, ne peut se faire qu'en près de 3 heures et ceci avec un personnel réorienté et absent de ses tâches programmées. La réalisation d'examen en L3 nécessite la présence permanente de deux personnes. En situation de permanence des soins (nombre restreint de techniciens sur place au laboratoire de garde pour assurer toute la biologie d'un hôpital à forte activité SAU et MCO) ceci est inenvisageable sans un renfort de personnel de jour et de garde.

3.3.4 Aspects humains - Information - Communication

Toutefois, force est de constater qu'après formation, quelques techniciens refusent de signer leur fiche d'habilitation ce qui pose un réel problème de prise en charge H24 des analyses. Cette difficulté peut mettre en défaut la totalité de la chaîne de prise en charge. Il est urgent d'y apporter une solution. Rappelons que le droit de retrait (Art L. 4131-1 et suivants du Code du travail) ne peut s'appliquer que si l'établissement ne prend pas les mesures de protection appropriées. Cependant l'article R.3131-10 du Code de la santé publique concernant la réserve sanitaire précise que les ESR doivent assurer le diagnostic et la prise en charge thérapeutique des patients en cas d'accident nucléaire, radiologique, biologique et chimique.

Afin de favoriser l'adhésion des personnels aux contraintes imposées par ces mesures de sécurité, une démarche d'accompagnement fondée sur une information claire, valide et soutenue doit être assurée dès l'embauche dans les ESR, y compris auprès des représentants des personnels comme en CHSCT. Des formations pratiques régulièrement répétées tout particulièrement à l'habillage et au déshabillage doivent être organisées avec participation obligatoire de tous, renforcées par des affiches avec photos, vidéos. Des exercices doivent être organisés régulièrement pour tester l'ensemble de la chaîne de prise en charge.

Dans cette situation exceptionnelle potentiellement fortement anxiogène, il pourrait être proposé qu'un renfort spécifique soit mis à disposition en médecine du travail, avec consultation et prise en charge psychologique qui permette d'accompagner au mieux la gestion du stress des personnels qui la souhaiteraient.

Plus largement, la prise en charge d'un tel patient, représentant une situation inédite et avec des incertitudes, justifie la mise en place d'un système d'information et de communication dédié entre tous les acteurs. Il devrait être sous la responsabilité du directeur et du responsable du service communication, en liaison étroite avec la CCS. Destiné aux professionnels mais aussi au patient et à ses proches, il devrait être préparé et entraîné à la gestion d'une multitude d'informations parfois contradictoires en urgence.

F. LIMITES et PERSPECTIVES

La portée de la recommandation proposée ici doit être tempérée par plusieurs éléments.

Commandée en contexte d'urgence sanitaire en Afrique de l'Ouest, sa première version avait été élaborée dans un délai court (rendue le 25 juillet 2014). Son champ avait été délibérément restreint pour que l'exercice demandé soit réalisable. De fait, dans la réalité, le ciblage sur le cas théorique d'un unique patient « avéré » a permis une préparation accélérée de l'accueil d'un tel patient. La présente version représente une mise à jour dont la portée sera à adapter à l'évolution de l'épidémie, avec révision ultérieure, selon besoin. Elle devra intégrer les récentes expériences et notamment la prise en charge de deux patients atteints de MVE avérée rapatriés en France en septembre et novembre 2014.

Cependant la question prioritaire que se posent les experts de terrain et à laquelle certains ont été confrontés concerne la situation de plusieurs patients suspects ou cas possibles de retour de la zone touchée par l'épidémie ; l'urgence est dans ce cas de confirmer ou d'infirmier au plus vite le diagnostic de maladie à virus Ebola, en conjuguant les travaux du CNR et ceux des laboratoires des sites. Traitée dans l'avis du HCSP, cette étape mérite d'être désignée comme prioritaire maintenant, avec le diagnostic d'un premier cas importé hors d'Afrique de l'Ouest. En effet, l'approche pour un patient unique n'a pas abordé les questions liées à la prise en charge d'un nombre élevé de patients, questions qui impliquent de rapprocher l'expertise clinique biologique (virologique notamment) sur le terrain ; ces questions doivent être étudiées maintenant, dans un état d'esprit favorisant l'appui qui doit être apporté aux praticiens de première ligne.

Le fait que l'analyse initiale se soit appuyée sur l'état des lieux de trois sites ciblés était justifié par l'urgence de la demande ; elle a probablement appréhendé une part importante des points à étudier plus avant. Une réflexion d'analyse des capacités avec l'ensemble des ESR zonaux a été engagée depuis sous l'impulsion des autorités sanitaires. Elle devrait s'étendre à tous les établissements et à la médecine libérale, susceptibles d'accueillir des patients suspects afin de définir et d'inscrire dans une organisation nationale les missions des ESR zonaux.

Plus encore, la réalité de l'expérience acquise par les personnes qui sont intervenues auprès des patients infectés en Afrique fait encore défaut dans cette première approche, quoique quelques collègues français qui y ont été mobilisés en première ligne aient contribué à ce travail. Une analyse critique de la recommandation par les soignants des ONG, en priorité MSF, est toujours à prévoir lorsque cela sera possible compte tenu de la lourde tâche qui est la leur sur le terrain pour le moment.

Un certain nombre de données concernant l'état des lieux dont les autorités sanitaires ont la responsabilité n'ont pas été facilement disponibles ; et celui-ci a constaté le caractère incomplètement conforme des structures d'accueil et des circuits à ce jour. Ces observations

montrent que la préparation à l'accueil d'un tel patient mérite d'être améliorée par un travail de fond au-delà de la fin de l'épidémie.

Les propositions de modulation des indications des examens biologiques dépendent de la stratégie de soins proposée au patient. Celle-ci considérait en juillet 2014 l'absence de traitement curatif ayant fait preuve de son efficacité. Aujourd'hui, si un tel patient atteint de MVE est pris en charge en France, il devrait pouvoir lui être proposé un traitement spécifique, utilisant une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) type compassionnelle, utilisant un ou des médicaments antiviraux, ou anticorps spécifiques, à hiérarchiser et à évaluer ; ceci suppose une démarche couplée de recherche clinique et thérapeutique, qui est en cours. L'approfondissement des aspects éthico-juridiques de cette réflexion est vivement souhaitable avec les instances compétentes.

Un certain nombre d'évolutions proposées ici nécessitent la formation et l'entraînement des personnels à des pratiques qui ne leur sont pas habituelles, et de ce fait les exposent à des gestes à risque accru. Cette donnée incite fortement à favoriser dans l'immédiat la sécurisation des pratiques acquises et à n'introduire de nouveaux équipements et structures qu'en parallèle de l'acquisition contrôlée de nouvelles compétences du personnel.

Les mesures de protection doivent être modulées en fonction de l'analyse du niveau de risque. C'est redire la nécessité d'un fonctionnement en binôme permettant une évaluation croisée du risque mieux ajustée, à chacune des étapes de l'indication à la gestion et la réalisation des examens biologiques.

Malgré ces limites, la demande du DUS a induit une forte mobilisation des experts représentant les différentes disciplines sollicitées, avec des échanges efficaces, dans un esprit coopératif et constructif, et une étape de relecture extérieure ayant autorisé un certain recul de l'analyse critique. Cette capacité de mobilisation et de concertation collectives constitue un atout important sur lequel devrait s'appuyer la poursuite de la préparation à ce type de risque.

La préparation au REB et aux phénomènes infectieux émergents en général nécessite le maintien opérationnel de cette expertise de terrain, de la même façon que les structures, les équipements, les circuits, et les pratiques doivent faire l'objet d'un entretien et d'un entraînement réguliers. Elle ne doit en aucun cas s'interrompre une fois « la crise » passée. Cette préparation peut également s'inscrire dans une démarche plus globale comme la préparation au risque NRBC.

Enfin, l'exercice réalisé soulève la question de l'articulation adéquate et complémentaire entre le HCSP et les sociétés savantes, dont les contributions et rôles respectifs gagneraient à être précisés en période inter-crise pour une réponse mieux adaptée, plus flexible et cohérente.

G. GROUPE DE TRAVAIL BIO EBOLA ET COLLABORATIONS

Elaboration, commentaires et relecture multidisciplinaires :

- Institutions représentées : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française - Fédération Française de Réanimation - Société Française d'Hygiène Hospitalière - Collège des Chefs de Pôle de Biologie - Société Française de Microbiologie - Service d'Aide Médicale d'Urgence - Société Française de Médecine d'Urgence - Service de Santé des Armées - HIA Bégin - CHU Bichat - Assistance Publique des Hôpitaux de Paris - CHU Lyon - Fièvres hémorragiques - Inserm L4 Lyon - Groupe d'Études sur le Risque d'Exposition des Soignants - Institut National de Recherche et de Sécurité - Haut Conseil de la santé publique - Conseil Scientifique Biotox Piratox - Centre National de Référence du Paludisme

- Groupe de travail : D. Abiteboul, H. Agut, A. Andreumont, S. Baize, M-C. Bayeux-Dunglas, P. Berthelot, E. Bouvet, R. Courcol, J-L. Diehl, B. Grandbastien, A. Merens, P. Pasquier, D. Peyramond, H. Puy, C. Rapp

- Relecture : I. Balty, O Bouchaud, P. Brisou, C Chidiac, C. David, M. Dupon, B. Guéry, D. Malvy, H. Raoul, CNR Paludisme, S. Houzé, B. Pradines, M. Thellier, groupe SPILF COREB, et responsables des sociétés et institutions partenaires

Coordination : C. Leport, C. Rabaud

Chargée de projet : H. Coignard-Biehler

Assistance secrétariat : M. Huet, A. Kichian

H. REFERENCES

- *Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à la conduite à tenir autour des cas suspects de maladie Ebola. 10 avril 2014.*
- *Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à une demande de précisions sur l'avis du HCSP concernant la conduite à tenir autour des cas suspects de maladie à virus Ebola du 10 avril 2014. 10 septembre 2014*
- *Johnson E. Lethal experimental infections of rhesus monkeys by aerosolized Ebola virus. Int J Exp Pathol. 1995 Aug;76(4):227-36.*
- *Interim Infection Control Recommendations for Care of Patients with Suspected or Confirmed Filovirus (Ebola, Marburg) Hemorrhagic Fever. BDP/EPR/WHO, Geneva August 2014.*
- *WHO Ebola response Team. Ebola Virus Disease in West Africa – No Early End to the Outbreak. N Engl J Med 2014; Sep 25*
- *WHO Ebola Response Team. Ebola Virus Disease in West Africa — The First 9 Months of the Epidemic and Forward Projections. N Engl J Med 2014, Oct 16*
- *Ftika L, Maltezou HC. Viral haemorrhagic fevers in healthcare settings. J Hosp Infect. 2013;83(3):185-92.*
- *Pigott DC. Haemorrhagic fever viruses. Crit Care Clin 2005;21(4):765-83.*
- *Feldmann H, Geisbert TW. Ebola haemorrhagic fever. Lancet 2011;377:849-62.*
- *Bühler, S., et al. Clinical documentation and data transfer from Ebola and Marburg disease wards in outbreak settings: health care workers' experience and preferences. Viruses, 2014, 6:927-937.*
- *Georges, A. J., et al. Ebola virus: what the practitioner needs to know. Med. Trop. 1998, 58:177-186.*
- *Kimman, T.G., et al. Evidence-based biosafety: a review of the principles and effectiveness of microbiological containment measures. Clin. Microbiol. Rev. 2008, 21:403-425.*
- *Puro, V., et al. Biosecurity measures in 48 isolation facilities managing highly infectious diseases. Biosecur. Bioterror, 2012; 10:208-214.*
- *Halfmann, P., et al. Generation of biologically contained Ebola viruses. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 2008, 105:1129-1133.*
- *Risi, G. F., et al. Preparing a community hospital to manage work-related exposures to infectious agents in biosafety level 3 and 4 laboratories. Emerg. Infect. Dis. 2010, 16:373-378*
- *Epidémiologie du virus Ebola en Afrique, 1976-2007, 17 décembre 2007 : http://www.invs.sante.fr/international/notes/Ebola-Afrique-1976-2007_171207.pdf*
- *OMS, aide mémoire Ebola : <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/fr/>*

- CDC : <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/>
- ECDC : http://www.ecdc.europa.eu/en/healthtopics/ebola_marburg_fevers/pages/index.aspx
- *Rapid risk assessment: Outbreak of Ebola haemorrhagic fever in Guinée*, ECDC: <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ebola-guinea-rapid-risk-assessment.pdf>
- *Médecine tropicale* : http://medecinetropicale.free.fr/cours/fievres_hemorragiques_virales.pdf
- *Management of Hazard Group 4 viral haemorrhagic fevers and similar human infectious diseases of high consequence*, Advisory Committee on Dangerous Pathogens, Department of Health, UK, September 2014:
https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/354640/VHF_guidance_document_updated_links.pdf
- <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736%2810%2960667-8/abstract>
- Roddy P1, Howard N, Van Kerkhove MD, Lutwama J, Wamala J, Yoti Z, Colebunders R, Palma PP, Sterk E, Jeffs B, Van Herp M, Borchert M. *Clinical manifestations and case management of Ebola haemorrhagic fever caused by a newly identified virus strain, Bundibugyo, Uganda, 2007-2008. PLoS One. 2012;7(12):e52986.*
- *Unrecognized Ebola Hemorrhagic Fever at Mosongo Hospital during the 1995 Epidemic in Kikwit, Democratic Republic of the Congo Emerging Infectious Diseases Vol. 4, No. 3, July–September 1998*
- Leroy EM, Sougrière S, Rouquet P, Drevet D. *Re-emergence of Ebola haemorrhagic fever in Gabon. Lancet 2002, Feb 23;359(9307):712*
- *Epidemiologic and Clinical Aspects of the Ebola Virus Epidemic in Mosongo, Democratic Republic of the Congo, 1995 The Journal of Infectious Diseases 1999;179(Suppl 1):S8–10*
- *Guide pratique sur l'application du règlement relatif au transport des matières infectieuses. 2013-2014. OMS. Ed. 20121. 32 pages.*
- *Nation Unies. Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route (ADR en vigueur le 1er janvier 2007).* <http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2007/07/ContentsF.html>
- *Report on the potential exposure to anthrax. Centers for Disease Control and Prevention. 11 July 2014*
- *Comment repérer et prendre en charge un patient suspect de Fièvre à virus Ebola ? Procédure SPILF - COREB - http://www.infectiologie.com/site/_actualite_detail.php?id_actualite=444-MARS du 2 septembre 2014*

I. ANNEXES

1. Liste des ESR zonaux Ebola



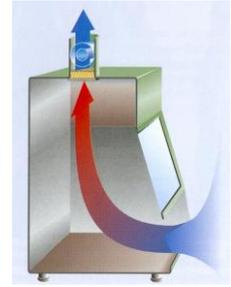
LISTE DES ETABLISSEMENTS DE SANTE DE REFERENCE HABILITES POUR LA PRISE EN CHARGE DES
PATIENTS CAS POSSIBLES OU CONFIRMES DE MALADIE À VIRUS EBOLA
Liste actualisée au 25 septembre 2014

Zones de défense	Région	Nom de l'établissement	Adresse	Cordonnées téléphoniques
Nord	Nord-Pas-de-Calais	CHU de Lille (ESR)	2, Avenue Oscar Lambret 59000 Lille	03.20.44.59.62
Ouest	Bretagne	CHU de Rennes (ESR)	2 Rue Henri le Guilloux 35000 Rennes	02.99.28.43.21
	Haute-Normandie	CHU de Rouen (ESR)	1 Rue de Germont, 76000 Rouen	02.32.88.87.39
Paris	Ile-de-France	Hôpital Necker (AP-HP) - enfants malades (ESR)	149 rue de Sèvres 75015 Paris	01.44.49.40.00
		Hôpital Bichat (AP-HP) (ESR)	46 Rue Henri Huchard 75018 Paris	01.40.25.80.80
		Hôpital d'instruction des armées Begin	69 avenue de Paris 94160 Saint-Mandé	01.43.98.50.00
Sud	Provence-Alpes-Côte d'Azur	Hôpital Nord (AP-HM) (ESR)	Chemin des Bourrely 13915 Marseille	04.91.38.00.00
Sud-est	Rhône-Alpes	Groupement Hospitalier Nord. Hôpital de la Croix-Rousse Service des maladies infectieuses et tropicales (ESR)	103, grande Rue de la Croix- Rousse 69317 Lyon Cedex 04	04.72.07.26.31
Sud-ouest	Aquitaine	CHU Bordeaux (ESR)	12, rue Dubernat 33404 Bordeaux	05.56.79.56.79
Est	Alsace	CHU de Strasbourg (ESR)	1, place de l'Hôpital 67091 Strasbourg	03.88.11.67.68
	Lorraine	CHU de Nancy (ESR)	29, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny 54035 Nancy cedex	06.85.11.67.94
Océan Indien	La Réunion	CH de la Réunion (ESR)	97405 Saint-Denis Cedex	02 62 90 50 50

2. Principales caractéristiques des PSM de type I, II et III

Les Postes de Sécurité Microbiologique (PSM) de type I, II et III sont des enceintes ventilées destinées à confiner les aérosols susceptibles de contenir des agents biologiques pathogènes et protéger le manipulateur (voies respiratoires, yeux, visage) et l'environnement.

Dans les PSM de **type I** (figure 1), l'air du laboratoire est aspiré à travers l'ouverture, traverse le volume de travail, puis est extrait après filtration à très haute efficacité. L'écoulement d'air entrant s'oppose à la sortie des agents biologiques protégeant ainsi l'opérateur mais pas le produit manipulé. Il permet par ailleurs d'installer des équipements relativement volumineux tels que centrifugeuses ou automates.



Dans les PSM II (figure 2), l'air du laboratoire est aspiré par l'ouverture du PSM, et passe sous le plan de travail, ce qui empêche la sortie des agents biologiques vers l'opérateur. Une partie de l'air est extraite après filtration à très haute efficacité ; l'autre partie est soufflée verticalement de façon laminaire dans l'enceinte après filtration à très haute efficacité, ce qui limite la contamination croisée des produits et leur contamination par les agents biologiques présents dans l'air du laboratoire.

La protection repose sur un équilibre entre l'air entrant et l'air soufflé dans le volume de travail. Cet équilibre qui peut être perturbé par la présence d'équipements volumineux.

Figure 2 : PSM II

Le volume de travail des PSM du **type III** (figure 3) est en dépression et ne comporte pas d'ouverture directe vers le laboratoire. L'accès à l'enceinte est assuré par deux manchons souples terminés par des gants. L'air du laboratoire aspiré à travers un filtre à très haute efficacité, circule dans le volume de travail de façon turbulente et ne protège pas le produit des contaminations croisées. L'air est extrait de l'enceinte après filtration à très haute efficacité. L'absence d'ouverture directe et la dépression protègent l'opérateur des agents biologiques.

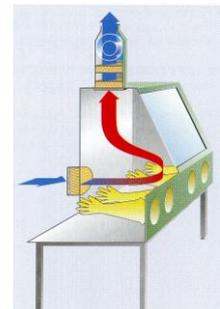


Figure 3 : PSM III

Les PSM du type I, II, III sont définis par la norme NF EN 12469 (juillet 2000). En France, cette norme est homologuée et donc obligatoire pour les marchés publics lors de l'achat de PSM. La marque NF-PSM, qui s'applique uniquement aux PSM II en recyclage, constitue pour l'acheteur et l'utilisateur l'assurance de la conformité aux spécifications de la norme EN 12469 et aux exigences complémentaires du règlement de la marque.

© INRS. Conception des laboratoires d'analyses biologiques. ED 999, page 105.

3. Équipements de protection individuelle (EPI)

Les EPI sont composés d'une tenue de protection imperméable ou étanche couvrante, de gants, d'un masque de protection respiratoire et d'une protection oculaire. Leur choix doit reposer sur une évaluation du risque. On utilisera, sauf impossibilité technique, des EPI jetables à usage unique, afin de limiter l'exposition du personnel chargé de leur nettoyage et de leur entretien. Les EPI jetables seront éliminés dans la filière des DASRI.

Des procédures d'habillage et de déshabillage doivent être rédigées. Les personnels doivent avoir été informés et formés avec un entraînement pratique à ces procédures afin de ne pas se contaminer, en particulier lors du retrait des EPI.

3.1 Tenue

Elle doit être choisie de manière à assurer une barrière efficace face aux risques de contacts et projections de sang et liquides biologiques. Les EPI adaptés font l'objet d'un avis du HCSP.

3.2 Gants

Port d'une double paire de gants d'examen (conformes à la norme EN 455) en Nitrile. La paire du dessus doit être à manchettes longues et est régulièrement changée.

2.3 Protection oculaire

Elle doit être assurée par des lunettes-masques étanches aux liquides selon la norme européenne NF EN 166 adhérentes au visage.

En cas de risque de projection abondante de liquides biologiques, il faut plutôt choisir un écran facial, conforme à la norme NF EN 166 qui assure une protection de l'ensemble du visage et du masque.

L'écran facial est plus simple à retirer sans se contaminer qu'un masque et des lunettes-masques en cas de projection de liquides.



© INRS. Les équipements de protection individuelle des yeux et du visage. ED 798, page 12.

Si possible, pour éviter une procédure de nettoyage désinfection, il est préférable d'utiliser des protections oculaires à usage unique.

2.4 Masque de protection respiratoire :

La base est le port d'un masque FFP2 (conforme à la norme NF EN 149) et résistant aux projections de liquides selon la norme européenne sur les masques chirurgicaux NF EN 14683 (marquage avec la lettre R). Le choix d'un modèle adhérent bien aux visages des utilisateurs ainsi que leur formation pratique à leur bonne utilisation (fit-check à réaliser) est important.

En cas de soins particulièrement exposants à des aérosols (intubation/extubation, ventilation mécanique non invasive, aspiration endotrachéale, fibroscopie bronchique, kinésithérapie respiratoire, prélèvement nasal ou naso-pharyngé...), il est préférable d'utiliser un masque FFP3, résistant aux projections de liquides et avec soupape pour un meilleur confort, combiné avec un écran facial.

4. Conduite à tenir en cas d'accident exposant au sang ou aux produits biologiques (contact percutané et cutané- muqueux)

En cas d'accident d'exposition percutanée ou de projection cutanée, après nettoyage abondant à l'eau et au savon, utiliser une solution chlorée, type Dakin^R pour la désinfection. En cas de projection cutanée massive, une douche est préconisée avec savon antiseptique.

En cas de projection muqueuse nettoyer et rincer abondamment et immédiatement.

Un avis doit être immédiatement pris auprès du médecin référent pour déterminer la surveillance à mettre en place. En particulier, la décision d'une éventuelle hospitalisation pour chimioprophylaxie, et les modalités de surveillance dépendront de l'intensité et de la nature de l'exposition et devront être mises en place et au mieux assurées par un binôme associant le praticien référent du site, et le responsable du CNR en lien avec l'InVS, et le cas échéant la DGS ou l'ARS.

Il n'y a pas de traitement prophylactique validé à ce jour. Néanmoins, les procédures doivent être en place pour permettre si besoin un traitement post-exposition en urgence à titre « compassionnel », même si l'efficacité n'est pas démontrée (avis groupe Ebola HCSP en cours).

Comme tout AES, il fera l'objet d'une déclaration d'accident de travail et d'un signalement à la médecine du travail.

5. Réalisation des examens microbiologiques

L'hypothèse de travail est le confinement des analyses en laboratoire L3 avec PSM II ou PSM III (ou boîte à gants équivalente). Dans les deux options, les EPI sont renforcés. Une analyse de risque est effectuée pour chaque manipulation.

5.1 Virologie

Dans le cadre d'un patient rapatrié avec infection avérée, la confirmation du diagnostic d'infection à virus Ebola, est effectuée par le CNR des Fièvres Hémorragiques (Dr. S. Baize, L4 J. Mérieux, Lyon). Le possible délai de diagnostic (et son possible impact sur la prise en charge) lié au temps d'acheminement vers le CNR pour les DOM rend nécessaire la réflexion sur le diagnostic par PCR dans l'ESR, avec confirmation par le CNR. L'extension de ce type de démarche est en cours dans les autres ESRH.

Pour les autres virus, l'extraction des acides nucléiques est réalisée au moyen d'un extracteur ou manuellement en laboratoire L3. Une nouvelle décontamination du contenant doit être effectuée si l'amplification est faite en dehors du laboratoire L3.

5.2 Parasitologie

Cf. avis du CNR du paludisme, annexe 6.

5.3 Bactériologie

5.3.1. Examen microscopique

L'étalement du produit biologique et l'examen microscopique se font dans le PSM. Le champ du microscope est visualisé grâce à une caméra CCD avec retransmission sur un écran placé en dehors du PSM.

A défaut, les examens seront limités au maximum, en raison de la difficulté d'observation avec les lunettes ou le masque de protection en plexiglas.

5.3.2. Cultures

Travail en PSM III : la mise en culture des échantillons se fait dans le PSM III. L'incubation se fait dans une enceinte thermostatée à 35°C pour incubation en aérobiose. Pour la recherche éventuelle de bactéries anaérobies, les milieux de culture sont placés dans des sacs plastiques avec générateurs d'atmosphère anaérobie ou CO₂, sans oublier les témoins.

Travail en PSM II : il faudrait éviter toutes les techniques nécessitant un vortexage du prélèvement primaire. La mise en culture des échantillons se fait dans un PSM II selon une méthodologie stricte : après ensemencement des géloses, l'opérateur introduit celles-ci dans un conteneur (plastique ou carton). Durant ce geste, il ne doit pas y avoir de contact entre les boîtes de Petri et l'extérieur du conteneur. Le conteneur est fermé par un couvercle laissant passer l'air pour une incubation en aérobiose. Pour la recherche éventuelle de bactéries anaérobies, le process est le même sauf que les boîtes de Petri sont mise dans un sachet plastique avec un générateur d'anaérobiose. Idem pour l'incubation sous CO₂.

5.3.3. Identification des micro-organismes

L'identification des bactéries et levures peut être effectuée en ayant recours à des galeries de type API20, 32, Rapid ID 32, Strep, A, NH, Candida, par exemple

5.3.4. Tests de sensibilité aux antimicrobiens

Les tests de sensibilité aux anti-infectieux sont réalisés en laboratoire L-3 avec la méthode des disques ou avec des bandelettes par gradient de densité.

5.3.5. Hémocultures

La réalisation des hémocultures reste problématique. Deux points sont importants :

- le lieu d'incubation des hémocultures ;
- le risque d'AES lors du perçage des flacons pour les hémocultures positives.

Pour atteindre des conditions de biosécurité et de sûreté biologique, les hémocultures devraient être incubées en L3 et techniques sous PSM III. Ceci implique d'avoir un automate à hémocultures en L3, avec des flacons non en verre. L'incubation de flacon type Castaneda entraîne une perte de sensibilité et, en l'absence de tulipe adaptée pour certains flacons, majore le risque d'AES pour le préleveur.

En l'absence d'automate dans le L3, les hémocultures seraient de fait incubées en L2. Ceci reste problématique pour un agent de classe 4, soumis au décret MOT, pour des raisons de sûreté biologique. Si cette option était choisie, ceci nécessiterait de ne pas avoir de flacon en verre, d'être en mesure technique de choisir la position de l'incubation dans un rack spécifique, d'informer l'ensemble du personnel et de renforcer la sécurisation des lieux. Les étapes seraient alors les suivantes. Après ouverture du triple emballage, la surface extérieure des flacons est décontaminée selon le processus décrit plus haut. En cas de positivité, elles sont mises en culture sur milieux gélosés incubés à 37°C dans un incubateur placé dans le PSM III ou dans le laboratoire L3.

5.3.6. Urines - ECBU

La bandelette urinaire, faite rapidement après émission de l'urine, donc réalisée au lit du patient, n'a d'intérêt que pour la détection des bactéries produisant une nitrate réductase et ne détecte pas certaines bactéries isolées dans les infections urinaires : *Pseudomonas spp.*, *Enterococcus spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Candida spp.*, par exemple. Pour la méthode de travail en PSM III ou PSM II, se reporter au paragraphe 2.

L'examen microscopique peut être réalisé avec les restrictions énoncées précédemment.

La culture et les tests de sensibilité aux antimicrobiens peuvent être réalisés selon les recommandations énoncées précédemment.

5.3.7. Secrétions bronchiques - LBA

L'examen microscopique peut être réalisé avec les restrictions énoncées précédemment. Selon l'équipement du laboratoire L3, la cyto-centrifugation ne peut pas être réalisée sauf à avoir un appareil spécifique en L3 sous un PSM.

La culture et les tests de sensibilité aux antimicrobiens peuvent être réalisés selon les recommandations énoncées précédemment.

6. Avis du Centre national de référence du Paludisme sur le diagnostic d'un accès palustre chez un patient porteur du virus Ebola

En réponse à la demande du groupe Bio Ebola, les membres du CNR du paludisme ont échangé après avoir pris les avis d'experts du groupe sur les modalités du diagnostic du paludisme chez un patient Ebola avéré ou possible.

Considérant l'avis des infectiologues qui préconisent la pratique d'un test de diagnostic du paludisme plutôt que l'usage d'un traitement présomptif antipaludique systématique qui présente un vrai risque d'effet indésirable grave ou d'errance diagnostique vis-à-vis d'une autre pathologie, et donc une perte de chance pour le patient, nous recommandons le diagnostic du paludisme chez les patients possibles ou avérés Ebola si la situation est de niveau 1 ou 2.

1. Les techniques de référence pour le diagnostic de paludisme sont habituellement l'observation microscopique d'un frottis mince et/ou d'une goutte épaisse colorés pour la mise en évidence du parasite, l'identification d'espèce et des stades de développement intra érythrocytaire et le comptage de la parasitémie pour l'espèce *Plasmodium falciparum*.

- La réalisation d'une goutte épaisse à partir d'un échantillon sanguin prélevé sur un patient possible ou avéré Ebola est à proscrire car elle impose la manipulation prolongée d'un volume important (2 à 10 µl) de sang total, sans possibilité d'inactivation du virus ni lors de sa préparation (dépôt, séchage), ni lors de la coloration.
- En cas de nécessité, la réalisation d'un frottis mince dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 (LSB3) avec port d'équipements de protection individuelle (EPI) adapté, sous une enceinte type PSM I, II ou III (selon autorisation en vigueur) pourrait être admise si la totalité des gestes techniques sont réalisés dans l'enceinte de confinement : étalement du frottis, séchage à l'air (dans l'enceinte), fixation au méthanol absolu pendant 5 minutes, et réalisation d'une coloration rapide pour le diagnostic du paludisme. L'ensemble des réactifs (méthanol, colorants) devra être disposé dans des contenants à usage unique permettant l'immersion complète de la lame d'examen. Ces réactifs seront éliminés après coloration selon le circuit recommandé pour les déchets dans ce contexte.

La fixation par le méthanol inactive le virus. Une fois coloré, le frottis pourra être sorti de l'enceinte de sécurité pour être lu au microscope dédié dans le laboratoire de sécurité biologique de niveau 3 avec le port des EPI dont les lunettes de protection. L'usage des lunettes de protection (ou autre EPI pour la protection des muqueuses oculaires) bien qu'il complique la lecture au microscope est incontournable pour protéger les muqueuses oculaires de tout contact avec l'environnement du LSB3, potentiellement contaminé, y compris le microscope et ses oculaires, par des manipulations éventuelles précédentes, et de plus, si le sujet retire ses lunettes, il est à risque de se contaminer avec des matériels souillés.

2. La mise en œuvre d'un test de diagnostic rapide (TDR) est une alternative diagnostique qui a montré sa sensibilité (96%) et sa spécificité (97%) dans le paludisme d'importation quand on met en œuvre un test détectant l'Histidin-Rich-Protein 2 (HRP2) spécifique de *P. falciparum*. Il est facilement répétable. Les rares faux-négatifs observés sont dans notre pratique métropolitaine et pour des isolats de *Plasmodium falciparum* contractés en Afrique de l'Ouest ou Centrale, essentiellement dus à une faible charge parasitaire (<200 parasites par microlitres, soit environ 0,005%). Le renouvellement du test après 24 à 48h permet dans cette situation de poser le diagnostic (augmentation de la parasitémie d'un facteur 8 à 20x). Les TDR ont une faible sensibilité pour le diagnostic des accès à *P. ovale* (57% à 69% selon les tests) mais dans le contexte, c'est le diagnostic de l'accès à *P. falciparum* en raison de son risque de létalité qui doit être diagnostiqué en priorité. Le choix d'un TDR combiné qui associerait la détection de l'enzyme lactico-déshydrogénase (pLDH) de *Plasmodium sp.* permet de diagnostiquer les éventuels isolats de *P. falciparum* non sécréteurs de HRP2, non retrouvés à ce jour en Afrique (revue de la littérature et expérience des études réalisées sur le terrain par le Dr Pradines) et d'augmenter la sensibilité de détection des autres espèces plasmodiales. Dans le cas d'une réaction positive avec le TDR pour la pLDH et négative pour l'HRP2, il est préconisé de mettre en place un traitement efficace sur l'ensemble des espèces

plasmodiales en l'absence de confirmation de l'espèce en cause par observation microscopique.

3. La réalisation du TDR peut être faite à partir de prélèvement capillaire au lit du patient ou à partir d'un prélèvement veineux sur anticoagulant. Le prélèvement veineux est recommandé notamment si un bilan biologique plus complet est prévu.
 - Le prélèvement capillaire expose en théorie davantage le personnel soignant à un contact avec le sang (réaction parfois vive à la douleur lors de la piqûre, geste vif, pression pour faire goutter le sang, écoulement du sang plus prolongé pour réaliser le test avec impossibilité de maîtriser à la fois la réalisation du test et le contrôle de l'écoulement du sang) ; cette modalité n'est pas à privilégier de notre point de vue et est à discuter selon les habitudes et les pratiques du personnel qui doit les appliquer.
 - L'idéal est de collecter le sang à partir d'une voie d'abord déjà en place en utilisant un robinet à 3 voies. Il convient alors de calibrer la quantité de sang déposée afin d'éviter des tests ininterprétables avec des pipettes plastiques à usage unique adaptées (type Microsafe® tube).
4. La réalisation du TDR à partir d'un prélèvement veineux impose sa manipulation dans une enceinte de protection type tente Flair ou dans une enceinte de confinement dans un LSB3 :
 - et ouvrir avec précaution le tube pour prélever le sang total ;
 - ou utiliser des dispositifs permettent de percer les tubes sans les ouvrir (type Diff-Safe®) : mais ceux-ci nécessitent, pour certains, l'utilisation de matériel piquant, et parfois le transfert sur une surface (lame, cupule) avant de prélever la quantité calibrée de sang pour le test.
5. Pour faciliter la réalisation des TDR dans des conditions de manipulation délicates (doubles paires de gants, gants épais,...), il peut être approprié de préférer un TDR dont la zone échantillon est large, disponible en conditionnement unitaire, avec une pipette calibrée plastique (type Immunoquick 4+ de la société Biosynex) : l'ensemble pouvant être éliminé selon les procédures recommandées.

Dans tous les cas, le choix des différentes alternatives doit être fait après concertation locale entre les cliniciens et les biologistes. La formation des utilisateurs, dans les conditions de confinement est nécessaire