

/ RESUME

La pandémie de Covid-19 a montré la vulnérabilité de nos systèmes de santé face aux infections virales sans traitement connu. Comprendre le mécanisme de transmission du SARS-CoV-2 dans l'air est une étape cruciale pour stopper la pandémie et mettre en place les mesures de prévention et de contrôle appropriées. Dans cet article, nous présentons comment les échantillonneurs d'air Coriolis (Bertin Technologies, Montigny-le-Bretonneux, France) peuvent être utilisés pour la détection de virus dans l'air ambiant. Nous décrivons également un exemple d'utilisation du Coriolis μ en milieu hospitalier pour monitorer la présence du SARS-CoV-2 par le biais des techniques de RT-qPCR et de culture.

/ MATERIEL

Echantillonneurs d'air Coriolis

• Collecteur d'air Coriolis μ

Le Coriolis μ est un biocollecteur d'air innovant permettant d'évaluer le niveau de biocontamination. Basé sur une technologie cyclonique, le Coriolis μ permet en 10 minutes, une collecte de particules. Grâce à son débit d'air élevé – jusqu'à 300L/min – le Coriolis μ est adapté à la collecte d'échantillon d'air pour la détection des différents types de micro-organismes incluant les virus. Les échantillons collectés par le Coriolis μ sont compatibles avec les techniques de microbiologie rapide telles que la qPCR, le NGS ainsi que les méthodes standards comme la culture.

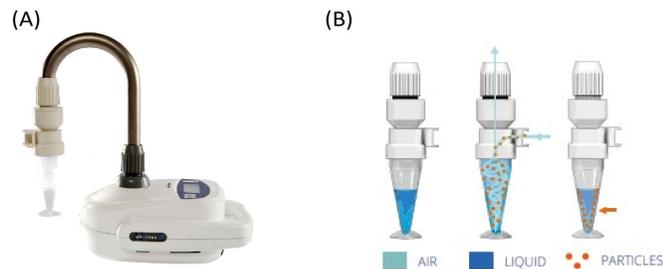


Figure 1 : L'échantillonneur d'air Coriolis μ : (A) : vue de profil, (B) principe de collecte (source : Bertin Technologies, France)

• Collecteur d'air Coriolis Compact

Le Coriolis Compact est le nouveau biocollecteur d'air de la gamme Coriolis, doté d'une technologie cyclonique à sec permettant une autonomie de 8 heures. Les échantillons collectés sont compatibles avec les méthodes d'analyse biologiques standards (NGS, qPCR, Culture). Après chaque collecte, l'utilisateur peut choisir le volume de liquide dans lequel il souhaite resuspendre son échantillon. Pour la collecte de virus, cela a l'avantage de permettre l'obtention des échantillons fortement concentrés.

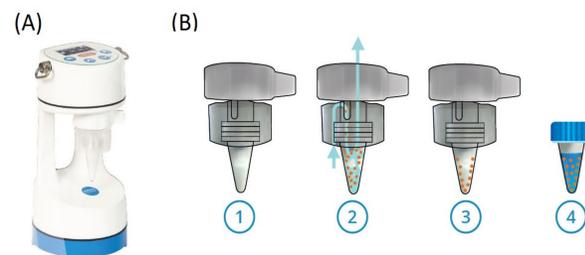


Figure 2 : L'échantillonneur d'air Coriolis Compact: (A) vue de profil, (B) principe de collecte (source : Bertin Technologies, France)

/ PROTOCOLE

UTILISATION EN MILIEU SANITAIRE DANS LE CADRE DE LA COVID-19

- **Stratégie d'échantillonnage** : Les échantillons collectés sur les surfaces, ainsi que les échantillons d'air ont été prélevés dans 8 sites différents d'un hôpital du Nord-Ouest de Londres pendant le pic de la première vague de Covid (entre le 2 et le 20 avril 2020), parmi lesquels 7 zones cliniques et 1 zone publique (voir la Figure 3). 4 échantillons d'air ont été collectés par zone (sauf dans le service des urgences, et les zones publiques, où 5 et 3 échantillons furent collectés). Des échantillons furent également collectés sur des surfaces à l'aide d'écouvillons, sur une zone d'approximativement 25cm² proche de l'endroit où l'échantillon d'air avait été prélevé.
- **Collecte** : L'échantillonnage a été effectué avec le Coriolis μ , (Bertin Technologies, France) à 100L/min pendant 10 min (ce qui correspond à 1m³ d'air) dans 5 mL de milieu DMEM.
- **Analyse RT-qPCR** : l'extraction ARN a été réalisée sur 140 μ L d'échantillon à l'aide du mini-kit Viral RNA de Qiagen. Elle fut suivie d'une RT-qPCR visant le gène de l'enveloppe (E) de SARS-CoV-2 avec le AgPath One-step RT-PCR (Life Technologies).
- **Culture virale** : Des cellules Vero E6 (cellules rénales de singe Cholorocebus) ainsi que Caco2 (cellules humaines de carcinome du colon) ont été utilisées pour cultiver les virus provenant des échantillons environnementaux prélevés à l'hôpital.

/ RESULTATS

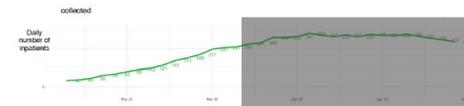


Figure 3: Nombre quotidien de patients hospitalisés pour le Covid-19, la zone grise représente la période où l'échantillonnage a été effectué (adapté de (Zhou, 2020))

	Total	SURFACE SAMPLES				AIR SAMPLES			
		positive	negative	suspect	% positive or suspect	Result	Notes		
Cohort ward A	6	0	0.0	2	33.3	2	30.3	Negative	
Staff room	6	1	16.7	3	50.0	4	66.7	Negative	
Nurse station	6	0	0.0	2	33.3	2	33.3	Negative	
Toilet B (outside the patients' bay)	6	3	50.0	2	33.3	5	83.3	Negative	7048
Corridor bay B	2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	Negative	
Staff room	2	0	0.0	0	0.0	0	0.0	Negative	
Cohort ward B	7	0	0.0	1	14.3	1	14.3	Suspect	454
Patients toilet (in the ward)	12	1	8.3	4	33.3	5	41.7	Suspect	1365
Male bay	8	2	25.0	5	62.5	7	87.5	Suspect	193
Male bay (side room)	5	1	20.0	2	40.0	3	60.0	Negative	
Ward managers office	7	0	0.0	5	71.4	5	71.4	Positive	454
Nurse station	8	0	0.0	2	25.0	2	25.0	Negative	
Patient bay 2	10	0	0.0	8	80.0	8	80.0	Negative	
Patient bay 1	10	0	0.0	2	20.0	2	20.0	Negative	
Adult acute admission unit	10	1	10.0	2	20.0	3	30.0	Negative	
Ward manager's office	10	1	10.0	2	20.0	3	30.0	Negative	
Nurse station	10	1	10.0	2	20.0	3	30.0	Negative	
Adult emergency department	4	2	50.0	0	0.0	2	50.0	Negative	
Nurse station	5	2	40.0	1	20.0	3	60.0	Negative	
Ambulatory waiting	3	0	0.0	1	33.3	1	33.3	Negative	
Patient assessment cubicles	3	0	0.0	1	33.3	1	33.3	Negative	
Male toilet (next to the nurse station)	2	0	0.0	1	50.0	1	50.0	Negative	
Female toilet (next patient > 2 hours)	10	0	0.0	4	40.0	4	40.0	Suspect	35
Hospital public areas	7	1	14.3	4	57.1	5	71.4	Suspect	1254
OCEM main entrance	7	1	14.3	3	42.9	4	57.1	Suspect	1545
Male toilet at OCEM main entrance	10	0	0.0	4	40.0	4	40.0	Negative	
Lift area OCEM ground floor	3	1	33.3	2	66.7	3	100.0	Suspect	1922
Nurse station	19	2	10.5	12	63.2	14	73.7	Suspect	31
CPAP unit	5	0	0.0	2	40.0	2	40.0	Negative	< 1m from 2 patients > 2 m from patients
Temporary CPAP ward	5	0	0.0	2	40.0	2	40.0	Negative	
PPE drying area	10	0	0.0	6	60.0	6	60.0	Suspect	249
Adult ICU	6	1	16.7	0	0.0	1	16.7	Negative	
Staff room	11	0	0.0	5	45.5	5	45.5	Suspect	154
Bay area	8	2	25.0	4	50.0	6	75.0	Suspect	307
Side room bay area	13	2	15.4	1	7.7	3	23.1	Negative	Before tracheostomy
Theatres								Negative	During tracheostomy
								Suspect	1193
								Negative	During tracheostomy
								Suspect	1231
								Negative	During tracheostomy
Total	218	23	10.6	91	41.7	114	52.3	2131 (6.4% positive, 1231 (57.7% suspect)	

Tableau 1: résultats PCR pour les échantillons d'air. Dans le cas où les analyses PCR des échantillons d'air et de surfaces détectent l'ARN du SARS-CoV-2, le résultat est défini comme positif. Si l'analyse d'un seul des échantillons détecte le virus, le résultat est défini comme suspect. Si aucune analyse ne détecte le virus, le résultat est négatif. (adapté de (Zhou, 2020))

/ CONCLUSION

Les concentrations détectées indiquent une charge virale non cultivable, confirmée par les tests de culture virale. Les données obtenues montrent une présence d'ARN viral dans les zones publiques de l'hôpital, mais moins fréquente que dans les zones cliniques. Ces résultats montrent que le Coriolis μ peut être utilisé avec succès pour évaluer la biocontamination par SARS-CoV-2 dans les milieux sanitaires.

Le contrôle de la qualité de l'air biologique, en particulier en temps de pandémie, est un enjeu crucial pour la santé de la population. Pouvoir détecter des micro-organismes pathogènes dans l'air permet de mieux connaître la population microbienne qui nous entoure ainsi que de mettre en place des mesures de préventions si nécessaire.

REMERCIEMENTS:

Dr Zhou du Department of Infectious Disease, Imperial College London, London, UK. Zhou, J., Otter, J., Price, J.R., Cimpeanu, C., Garcia, D.M., Kinross, J., Boshier, P., Mason, S., Bolt, F., Holmes, A.H. and Barklay, W., (2020). Investigating SARS-CoV-2 surface and air contamination in an acute healthcare setting during the peak of the COVID-19 pandemic in London. *Clinical Infectious Diseases*, ciaa905