



Avis du 29 septembre 2020 de la Société Française de Microbiologie (SFM) relatif à la réalisation des prélèvements salivaires pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR dans le cadre du diagnostic des formes symptomatiques de la COVID-19
Version 1_29/09/2020

Date de la saisine : 21 septembre 2020	Demandeur : Pr Jérôme SALOMON, Direction Générale de la Santé (DGS)
Groupe d'experts	<i>Dr Sonia BURREL (GHU Pitié-Salpêtrière Paris, Service de Virologie)</i> <i>Pr Bruno LINA (CNR Virus respiratoires, Service de Virologie CHU Lyon)</i> <i>Dr Maude BOUSCAMPERT-DUCHAMP (CNR Virus respiratoires CHU Lyon)</i> <i>Pr Gérard LINA (CHU Lyon, Service de Bactériologie, Président de la SFM)</i> <i>Pr Audrey MERENS (Hôpital d'Instruction des Armées Bégin)</i> <i>Dr Jean-Marc GIANNOLI (BIOGROUP, Lyon)</i> <i>Dr Jean-Pierre BOUILLLOUX (LxBIO Rodez)</i> <i>Pr Constance DELAUGERRE (GHU Saint-Louis, Service de Virologie, Paris)</i> <i>Pr Jérôme LE GOFF (GHU Saint-Louis, Service de Virologie, Paris)</i>

1. Demande

Par saisine de la DGS en date du 21 septembre 2020, le Directeur Général de la DGS a demandé à la SFM d'émettre un avis concernant le mode opératoire pour la réalisation des prélèvements salivaires, tout en précisant également les modalités de réalisation par les patients d'auto-prélèvements salivaires, afin de garantir le respect des exigences requises en phase pré-analytique (matériel et modalités de prélèvement et de recueil de l'échantillon, conservation, transport ...). Cette saisine fait suite à l'avis favorable, donné par la Haute Autorité de Santé (HAS), à l'inscription de la détection du génome du SARS-CoV-2 par RT-PCR sur prélèvement salivaire, sur la liste des actes et prestations, mentionnée à l'article L. 162-1-7 du code de la sécurité sociale dans l'indication de diagnostic des patients symptomatiques non hospitalisés jusqu'à 7 jours après apparition des symptômes, en orientant de préférence les patients vers le prélèvement salivaire lorsque le prélèvement nasopharyngé est difficilement ou non réalisable.

2. Contexte

La politique gouvernementale concernant la stratégie de lutte contre la COVID-19 repose sur la réalisation massive de tests virologiques RT-PCR. L'optimisation de cette stratégie impose de rendre la réalisation des prélèvements plus facilement acceptables, en identifiant toutes les évolutions possibles et en tenant compte de la praticabilité de chaque mode de prélèvement, en particulier pour le dépistage de masse. Ainsi, dans ce contexte, le prélèvement salivaire paraît adapté pour la détection du SARS-CoV-2 pour le diagnostic des formes symptomatiques de la COVID-19 et il est important de pouvoir définir les exigences requises pour le recueil d'un échantillon de salive, sa conservation et son transport pour la réalisation de tests virologiques RT-PCR SARS-CoV-2, tout en identifiant les avantages et inconvénients du prélèvement salivaire.

3. Problématique

Les tests RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé sont aujourd'hui considérés comme la technique de référence pour la détection des virus respiratoires. Elle dépasse en sensibilité et souvent aussi

en spécificité l'ensemble des autres tests conventionnels pour la détection des pathogènes (tests antigéniques, isolement en culture cellulaire pour la détection de virus ...). La RT-PCR est facile et rapide à mettre en œuvre au sein du laboratoire quelle que soit la technique de prélèvement.

Concernant les prélèvements salivaires, les données scientifiques et les publications sont encore peu nombreuses et le recul est encore faible mais certains résultats montrent que, sous certaines conditions, ils peuvent être indiqués, avec un bon rendement, chez les patients symptomatiques, en début d'infection, surtout lors de contre-indication au prélèvement nasopharyngé. Si le prélèvement salivaire est plus facile à réaliser à grande échelle en particulier (prélèvements simultanés de plusieurs patients par auto-prélèvement ...), le traitement des échantillons de salive diffère de celui des prélèvements nasopharyngés au niveau pré-analytique (examen visuel, prétraitement ...) car la salive est un liquide biologique qui nécessite une homogénéisation et parfois une fluidification en cas d'échantillon visqueux. Le recueil de salive doit être réalisé dans un pot ou un tube large sec et stérile. Ainsi, la salive doit être transférée dans un second temps, dans un tube aux dimensions compatibles avec le stockage et/ou sa prise en charge par les automates. Cette contrainte de manipulation de prélèvement représente un risque infectieux et alourdit considérablement l'étape pré-analytique. Au total, le prélèvement salivaire impose des contraintes pré-analytiques qui complexifient le flux de prise en charge analytique des échantillons pour la réalisation de la RT-PCR pouvant retarder significativement le rendu de résultat.

En l'état actuel des connaissances, en septembre 2020, plusieurs questions sont ainsi soulevées et les réponses sont amenées à être modifiées en fonction de l'évolution des connaissances et des résultats d'études actuellement en cours :

3.1 - Quelles sont les situations où le prélèvement de salive peut être proposé pour la détection du génome viral du SARS-CoV-2 par RT-PCR ?

Il s'agit uniquement de patients symptomatiques (la méthode n'est pas validée pour les patients asymptomatiques par défaut de sensibilité) pour lesquels :

- Il y a une contre-indication à la réalisation d'un prélèvement nasopharyngé (physique [cloison nasale déviée, risque de saignement ...] ou psychologique [enfants, patients présentant un handicap mental ...]) ;
- pour être informatif, le prélèvement salivaire doit être réalisé moins de 5 jours après le début des symptômes ;
- Le rendu des résultats se faire dès que possible, recommandé dans un délai de 24 à 48h.

Cette alternative semble aussi intéressante en cas de pénurie de matériel de prélèvement (écouvillons, milieux de transport ...).

3.2 - Quelles sont les modalités de prélèvement de salive pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR ?

Contrairement à l'expectoration, le prélèvement salivaire peut être fait à tout moment de la journée mais ne doit pas être réalisé après rinçage bucco-dentaire à l'eau stérile ou lors d'un effort de toux.

Le prélèvement salivaire doit être réalisé plus de 30 minutes après la dernière prise de boisson, d'aliment, de cigarette / e-cigarette, d'un brossage des dents ou d'un rinçage bucco-dentaire.

Pour les personnes capables de cracher, récupérer le crachat salivaire dans un flacon sec et stérile (il convient de définir le volume minimum nécessaire avec le laboratoire de biologie médicale effectuant la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR). Pour les personnes incapables de cracher, la

salive peut être récupérée sous la langue à l'aide d'une « pastette » ou d'un système dédié permettant de récupérer la salive, en suivant les recommandations du fabricant.

Après récupération de la salive, le **flacon doit être fermé hermétiquement, décontaminé avec un traitement désinfectant usuel virucide** selon la procédure décrite dans fiche SFM « Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de la COVID-19 », **puis identifié** (Nom, Prénom, Date de naissance, Date de prélèvement).

La personne enregistrant ou réceptionnant le prélèvement doit vérifier (par comparaison avec un gabarit) que le volume de salive sera suffisant pour la réalisation de l'analyse.

3.3 - Quelles sont les modalités d'emballage et de conservation pour le transport des échantillons de salive pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR ?

Elles doivent respecter les règles d'emballage et de transport des échantillons humains destinés au diagnostic du SARS-CoV-2 décrite dans la fiche SFM « Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de la COVID-19 ». L'échantillon de salive peut être conservé à température ambiante le temps de son transfert au laboratoire. Le délai d'acheminement au laboratoire doit être le plus court possible et ne pas dépasser 5h. Après arrivée au laboratoire, il peut être conservé si nécessaire à + 4 °C ou à température ambiante (5 jours maximum pour une ré-analyse ultérieure si nécessaire) sans perte de chance de détection de l'ARN viral. En revanche, les cycles congélation-décongélation risquent d'altérer la sensibilité de la détection par RT-PCR et doivent être évités.

3.4 - Quelles sont les conditions pour la réalisation d'auto-prélèvement de salive pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR ?

Le recueil d'un échantillon de salive, pour les personnes capables de cracher, peut être réalisé sous la forme d'auto-prélèvement sous réserve d'une information préalable du patient par un professionnel de santé habilité sur les modalités de réalisation, sur le volume minimum de salive à recueillir, sur le soin apporté à la fermeture du flacon, la décontamination de la face extérieure du flacon, son identification, son emballage et son transport (au minimum, un double emballage avec papier absorbant). Le laboratoire devra fournir le matériel adapté.

Si l'auto-prélèvement est réalisé en dehors de toute supervision, le laboratoire ne peut s'assurer de l'identité de l'échantillon (cette information est à reporter sur le compte rendu).

3.5 - Quelle doit être la prise en charge pré-analytique du prélèvement de salive et son prétraitement pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR ?

La salive peut contenir une importante quantité de virus et constitue donc un échantillon à risque infectieux. Les règles de biosécurité au laboratoire doivent suivre les recommandations pour l'ensemble des échantillons respiratoires suspects de SARS-CoV-2 décrite dans la fiche SFM « Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de la COVID-19 ».

Le risque de contamination accidentelle du personnel technique est associé à la manipulation d'un flacon mal fermé. En conséquence tout flacon de salive déversé dans son sachet ne devra pas être traité par le laboratoire.

L'échantillon de salive doit être préalablement examiné au sein d'un laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 avant de procéder à l'analyse. Pour les salives ne contenant pas de mucus,

bien homogénéiser l'échantillon par agitation au vortex pendant une minute sous poste de sécurité microbiologique (PSM) avant l'étape d'extraction de l'acide nucléique.

Pour les salives contenant du mucus, un traitement fluidifiant peut être nécessaire comme pour un examen cytot bactériologique de crachat avant l'extraction de l'acide nucléique.

Les méthodes de pré-traitement doivent être validées pour chacune des techniques RT-PCR, afin de vérifier notamment que le traitement n'induit pas d'inhibition des réactions d'amplification et que la sensibilité est conservée.

4. Références

Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, Fasano M, Sessa F, Tettamanti L, Carinci F, Maurino V, Rossi A, Tagliabue A, Baj A. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. *J Infect.* 2020 Jul;81(1):e45-e50.

Baghizadeh Fini M. Oral saliva and COVID-19. *Oral Oncol.* 2020 Sep;108:104821.

Botterel F, Lachaud L, Pozzetto B, Toro A, Wallet F, Cattoen C. Infections broncho-pulmonaires (hors tuberculose et mucoviscidose) REMIC 2018. 6^{ème} édition, Société Française de Microbiologie.

Bouilloux JP, Mereghetti L. Règles d'emballage et de transport des matières biologiques. REMIC 2018. 6^{ème} édition, Société Française de Microbiologie.

Bouscambert M, Lemaitre N, Allix-Le Guen S, Merens A, Lina B, Lina B. Gestion des prélèvements biologiques d'un patient suspect ou confirmé de la COVID-19. Version 6. <https://www.sfm-microbiologie.org>

Chen JH, Yip CC, Poon RW, Chan KH, Cheng VC, Hung IF, Chan JF, Yuen KY, To KK. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Dec;9(1):1356-1359.

Kim YG, Yun SG, Kim MY, Park K, Cho CH, Yoon SY, Nam MH, Lee CK, Cho YJ, Lim CS. Comparison between Saliva and Nasopharyngeal Swab Specimens for Detection of Respiratory Viruses by Multiplex Reverse Transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 2016 Dec 28;55(1):226-233.

Nunes LA, Mussavira S, Bindhu OS. Clinical and diagnostic utility of saliva as a non-invasive diagnostic fluid: a systematic review. *Biochem Med (Zagreb).* 2015 Jun 5;25(2):177-92.

Ott IM, Strine MS, Watkins AE, Boot M, Kalinich CC, Harden CA, Vogels CBF, Casanovas-Massana A, Moore AJ, Muenker MC, Nakahata M, Tokuyama M, Nelson A, Fournier J, Bermejo S, Campbell M, Datta R, Dela Cruz CS, Farhadian SF, Ko AI, Iwasaki A, Grubaugh ND, Wilen CB, Wyllie AL. Simply saliva: stability of SARS-CoV-2 detection negates the need for expensive collection devices. *medRxiv.* 2020 Aug 4:2020.08.03.20165233.