
AVIS

relatif à la pertinence du diagnostic du Covid-19 à partir de prélèvements oro-pharyngés dont les crachats ainsi qu'à la pertinence du poolage des échantillons

11 août 2020

Le Haut Conseil de la santé publique a reçu une saisine de la Direction générale de la santé (DGS) par courriel daté du 29 juillet 2020 (annexe 1).

Dans un contexte de montée en charge de la réalisation des tests diagnostiques par RT-PCR, il apparaît nécessaire d'optimiser la stratégie de recours aux tests diagnostiques en rendant ces tests toujours plus faciles d'accès et simples à réaliser.

La DGS souhaite obtenir une expertise relative aux questions suivantes :

- pertinence des prélèvements oro-pharyngés dont les crachats : intérêt, indications possibles et limites dans le cadre du diagnostic des formes symptomatiques, des investigations autour des cas et pour le dépistage de masse ;
- pertinence d'effectuer des analyses sur des pools de prélèvements (dans l'objectif d'augmenter les capacités à réaliser des tests virologiques et ainsi intensifier les campagnes de dépistage auprès de la population), en tenant compte des dernières évolutions technologiques qui pourraient être rapidement disponibles.

Contexte :

Le 31 décembre 2019, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a été informée par les autorités chinoises d'un épisode de cas groupés de pneumonies dont tous les cas initialement confirmés semblaient liés avec un marché d'animaux vivants dans la ville de Wuhan (région du Hubei), en Chine.

Le 9 janvier 2020, un nouveau virus a été identifié par l'OMS comme étant responsable de ces cas groupés de pneumopathies en Chine. Il s'agit d'un coronavirus, d'abord désigné virus 2019-nCoV (novel coronavirus), puis le 11 février 2020 officiellement désigné par le Comité international de taxonomie virale SARS-CoV-2, responsable de la maladie intitulée par l'OMS Covid-19 (Coronavirus disease).

L'importation de cas de Covid-19 depuis la Chine dans d'autres pays a été observée dès le mois de janvier 2020. L'ensemble des continents a été progressivement touché, conduisant l'OMS à déclarer l'état d'urgence de santé publique internationale (USPPI) le 30 janvier 2020. Le 11 mars 2020, l'OMS déclarait la pandémie à Covid-19 et le 15 mars 2020, la France était au stade 3 de l'épidémie.

A partir de la 2^e semaine d'avril, les différents indicateurs épidémiologiques ont suivi une évolution à la baisse, pour atteindre de faibles niveaux d'intensité au moment de la levée progressive des mesures de confinement au cours de la 2^{ème} semaine de mai.

Au 7 août 2020 :

19 128 901 malades ont été infectés par le SARS-CoV-2 dans le monde dont 715 555 décès.

En France 197 921 cas ont été confirmés depuis le début de l'épidémie dont 30 324 décès. Actuellement 5011 personnes sont hospitalisées dont 383 patients en réanimation pour forme grave de Covid-19.

La reprise de la circulation virale avec de nombreux foyers disséminés dans plusieurs régions françaises conduit à multiplier les tests diagnostiques et par conséquent à rechercher des techniques de prélèvement plus simples avec des résultats plus rapidement disponibles.

Afin de répondre à la saisine de la DGS en lien avec l'épidémie en cours, le HCSP a réactivé le groupe de travail « grippe, coronavirus, infections respiratoires émergentes » composé d'experts membres ou non du HCSP [composition du groupe de travail en annexe 2)].

La recherche documentaire a reposé sur la consultation des articles scientifiques disponibles dans Pubmed, les bases medRxiv, LilCovide, Reacting et des documents des agences nationales, européennes et nord-américaines, avec les mots clés : pooled RNA, RT-PCR assay, SARS-CoV-2 infection, viral load SARS CoV-2, clinical samples SARS-CoV-2, Covid-19 molecular diagnosis.

Le HCSP a pris en compte les éléments suivants :

1. Les méthodes de diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 : détection de l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-PCR

La détection de l'ARN du SARS-CoV-2 par technique moléculaire de RT-PCR reste aujourd'hui la seule méthode performante pour le diagnostic de la phase active de l'infection, particulièrement au moment de la phase précoce pré-symptomatique et chez les personnes asymptomatiques.

2. La nature des échantillons biologiques prélevés

Bien que la sensibilité analytique de la RT-PCR soit proche de 100%, l'interprétation du résultat dépend du type d'échantillon, du stade de l'infection, de la qualité de l'échantillon et donc de l'expérience du préleveur. Ainsi un échantillonnage inapproprié peut expliquer les résultats de PCR « faussement négatifs », jusqu'à 30 % dans certaines séries (https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/05/Mise-au-point-sur-la-sensibilite%CC%81-des-tests-RT-PCR_CNR.pdf).

2.1 Les prélèvements naso-pharyngés

- Il s'agit de frottis naso-pharyngés et de frottis nasaux profonds par écouvillonnage profond du nez (<https://www.preventioninfection.fr/actualites/video-tutoriel-de-techniques-de-prelevement-de-covid-19/>).
- Ils nécessitent une technique maîtrisée ; le préleveur doit y être formé (fiche de compétence et d'habilitation disponible sur le site de la Société française de microbiologie : <https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2020/07/fiche-habilitation-prelevement-rhino-pharynge-v3.pdf>) ; en outre, il doit être protégé du risque d'être contaminé par le port d'un masque FFP2, de lunettes ou d'une visière de protection, de gants à usage unique, d'une surblouse et par une hygiène des mains.

- **Avantage** : il s'agit de la méthode de prélèvement la mieux standardisée et présentant la meilleure sensibilité diagnostique (1) ; elle est actuellement recommandée en France par le CNR des virus des infections respiratoires (dont la grippe).
- **Inconvénient** : le prélèvement peut être un peu douloureux ou pour le moins désagréable pour le patient.
- L'excrétion du génome viral au niveau du nasopharynx a pu être mise en évidence chez certains patients plusieurs semaines après la disparition des symptômes chez des sujets qui ne sont plus considérés comme contagieux (2). Ce point a fait l'objet d'un avis du HCSP (3).

2.2 Les prélèvements oro-pharyngés

- **Rappel de définitions**

- **salive** : liquide biologique sécrété par les glandes salivaires à l'intérieur de la cavité buccale ;
- **crachats (ou expectorations)** : sécrétions expulsées par la bouche provenant des voies respiratoires basses ;
- **crachats (ou expectorations) induit(e)s** : sécrétions bronchiques expulsées par la bouche, après stimulation de la toux par un aérosol de chlorure de sodium hypertonique ;
- **prélèvement oro-pharyngé postérieur** : recueil de sécrétions pharyngées par voie buccale par écouvillonnage pharyngé ou recueil des sécrétions pharyngées expulsées après gargarisme de la gorge et en l'absence d'ingestion d'aliments ou de liquides depuis au moins 30 minutes ; ce prélèvement est possible dans le cadre d'un auto-prélèvement (recommandé au réveil) (<https://www.youtube.com/watch?v=rZ3oNsJGBxo>) ;

- **Utilisation de ces différents prélèvements dans le cadre du dépistage de l'infection à SARS-CoV-2**

- **Salive** : le grand avantage du prélèvement de salive est qu'il ne nécessite pas systématiquement l'intervention d'un préleveur externe. Dans les quelques études qui ont comparé les résultats de ces prélèvements à ceux de prélèvements naso-pharyngés, la sensibilité est plutôt moindre (4,5). Cependant, une étude récente comparant les performances de ces deux prélèvements sur un nombre limité de sujets (76 dont seulement 10 infectés par SARS-CoV-2) a montré que la cinétique de détection du génome viral était très proche au cours des deux semaines qui suivent l'apparition des symptômes alors qu'elle décroissait beaucoup plus rapidement dans la salive au-delà de ce délai (6). Ces données tendent à montrer que la salive pourrait constituer un prélèvement d'intérêt pour le dépistage rapide des sujets en cours d'infection active. Cependant, des études complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces données.
- **Crachats (ou expectorations)** : ce prélèvement est insuffisamment standardisé pour pouvoir être recommandé dans le cadre du diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2.
- **Crachats (ou expectoration) induit(e)s** : il pourrait s'agir d'une alternative acceptable au prélèvement naso-pharyngé en termes de sensibilité diagnostique mais les conditions de réalisation du prélèvement sont beaucoup trop contraignantes pour en faire une méthode intéressante pour le dépistage rapide des sujets infectés par SARS-CoV-2.

- **Prélèvement oro-pharyngé postérieur** : ce type de prélèvement a fait l'objet de plusieurs études comparatives avec le prélèvement naso-pharyngé. En pratique, il est possible de distinguer deux situations :
 - soit le prélèvement est effectué par un tiers et son bénéfice apparaît limité en termes de praticabilité par rapport au prélèvement naso-pharyngé : le préleveur doit être formé à la technique de prélèvement et équipé en matériel de protection comme pour le prélèvement naso-pharyngé ; l'induction d'un réflexe nauséux dans un nombre non négligeable de cas rend sa standardisation plus aléatoire ; des fausses routes ont également été signalées chez de jeunes enfants ou des sujets âgés ;
 - soit il s'agit d'un auto-prélèvement, ce qui simplifie la réalisation du geste. Bien qu'un peu moins sensible, ce mode de prélèvement représente une alternative qui mérite d'être évaluée plus en détails. Différentes études (7-9) rapportent une sensibilité diagnostique acceptable à la phase aiguë de l'infection, bien que plusieurs d'entre elles souffrent de biais méthodologiques ;
- **Au total, les auto-prélèvements salivaires et oro-pharyngés postérieurs pourraient constituer des modalités de dépistage alternatives aux prélèvements naso-pharyngés à la phase initiale de l'infection par SARS-CoV-2 mais doivent toutefois faire l'objet d'évaluation par des études comparatives plus rigoureuses, par exemple sur le modèle proposé par Sullivan et al (10).**

2.3 Prélèvements profonds (respiratoires bas)

Au stade de pneumonie, il est préférable d'avoir recours à des prélèvements des voies respiratoires basses : expectoration obtenue par technique du crachat induit chez les patients non intubés, aspirations trachéales ou lavage broncho-alvéolaire (LBA) chez les patients en réanimation ; dans environ 30 % des cas, l'ARN viral a été détecté dans les échantillons respiratoires profonds sans être amplifié dans les prélèvements oro- ou naso-pharyngés (11).

3. Méthodes alternatives à la RT-PCR en deux temps (étape d'extraction des acides nucléiques suivie d'une étape d'amplification génique)

Fondées sur d'autres techniques, elles peuvent être plus rapides ou utilisables au lit du patient ; leur sensibilité analytique et clinique doit être évaluée de façon rigoureuse. Certaines sont disponibles alors que d'autres sont en développement (12).

- Certains tests moléculaires commerciaux basés sur la RT-PCR enchainant sur un même automate les étapes d'extraction des acides nucléiques et d'amplification génique permettent d'obtenir un résultat en 2 à 3 heures, au lieu de 4 heures pour les tests moléculaires traditionnels sur le modèle de ceux préconisés par le CNR des virus respiratoires dont la grippe. Leur sensibilité est équivalente à celle de la RT-PCR classique en deux étapes. Ils sont plus faciles à réaliser par du personnel de laboratoire moins familiarisé avec les tests de biologie moléculaire. Outre leur prix de revient plus élevé, la principale limite de ces tests est leur accessibilité réduite du fait d'une très forte demande sur le marché international. Ils nécessitent par ailleurs des automates spécifiques dont la disponibilité est également limitée du fait des besoins au niveau international.
- Des tests de commercialisation plus récente permettent d'obtenir un résultat en environ 1 heure. Ils sont faciles à réaliser, ne nécessitent pas de personnel spécialisé et peuvent être installés en dehors de laboratoires de biologie médicale. Ces tests commerciaux, basés sur

le principe de l'amplification isotherme de type LAMP (loop-mediated isothermal amplification), sont en cours de commercialisation pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2. Leur sensibilité est un peu moindre que celle des tests de RT-PCR mais pourrait s'avérer suffisante pour dépister les infections actives. Leur principale limite reste la difficulté à les utiliser à grande échelle en raison, comme les précédents, de capacité de production limitée en regard de la demande, ce qui pourrait conduire à les réserver plutôt à des situations de déploiement d'urgence, comme par exemple au sein des aéroports au retour de voyages internationaux.

Le test Easycov®, développé en France et basé sur la technique LAMP, doit bénéficier très prochainement d'une évaluation de sa sensibilité analytique par le CNR Pasteur.

- A l'instar de ce qui existe pour d'autres virus respiratoires (virus grippaux, virus respiratoire syncytial, ...), il serait possible d'envisager l'utilisation de tests de diagnostic rapide (TDR) détectant des antigènes de SARS-CoV-2 (13). Le principal écueil de ces tests est leur manque avéré de sensibilité par rapport aux tests moléculaires. Cependant, dans le cadre du SARS-CoV-2, ce type de test pourrait permettre d'identifier rapidement des sujets présentant des charges virales élevées que l'on désigne sous le terme de « super-contaminateurs », notamment dans les services d'urgence ou parmi les personnels soignants afin de prévenir les départs d'épidémie. A ce jour, ces tests antigéniques rapides ne sont pas commercialisés et leur pratique n'est pas recommandée en pratique clinique.

4. L'avis du HCSP relatif au poolage

Le terme « poolage » correspond au regroupement de plusieurs échantillons au sein d'une même analyse biologique afin de réduire le nombre de tests réalisés. Dans le cadre des tests moléculaires relatifs à la détection de l'ARN du SARS-CoV-2, le HCSP avait été sollicité pour donner un avis sur l'opportunité de réaliser un poolage des échantillons naso-pharyngés afin d'augmenter la cadence des dépistages.

Depuis cet avis publié le 10 mai 2020 (14): (<https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/AvisRapportsDomaine?clefr=828>), la recherche documentaire s'est enrichie de publications relatives aux performances analytiques de la technique de poolage. Une étude prospective conduite à New Delhi montre que la technique de poolage de 280 extraits d'ARN du SARS-CoV-2 répartis par pools de 8 (dont au moins 1 échantillon positif par pool) est une méthode fiable pour détecter 1 échantillon même très faiblement positif (Ct= 38) (15). Le point fort présenté par les auteurs est la possibilité de réaliser le pool sur les extraits d'ARN et non les échantillons car, d'une part, l'étape d'extraction de l'ARN est automatisée et préalable à toute détection moléculaire sur échantillon individuel ou échantillons groupés et d'autre part, cela facilite l'investigation complémentaire pour identifier le ou les échantillons positifs détectés à partir de pools. La technique de poolage a été mise en œuvre à grande échelle sur 26 576 extraits d'ARN d'échantillons naso-pharyngés prélevés chez des personnes asymptomatiques et répartis par pool de 8 ; alors que le taux de détection de l'ARN du SARS-CoV-2 était faible (0,12%), le taux évalué de non détection d'échantillons positifs a été de 0,38% (analyse intermédiaire portant sur 13 781 des 26 576 échantillons techniqués en parallèle individuellement), soit un risque très acceptable dans une démarche de dépistage à large échelle (16).

La détermination de la taille du pool d'échantillons, en fonction de la prévalence de l'infection et de la sensibilité du test moléculaire, a fait l'objet de nouvelles modélisations évaluant le risque de faux négatifs (17).

En termes de pratique sur le terrain, lors de vastes campagnes de dépistage, la stratégie du poolage d'échantillons a été mis en œuvre à Wuhan, permettant de tester près de 6,5 millions

de personnes en 2 semaines (18) (<https://www.nytimes.com/2020/05/26/world/asia/coronavirus-wuhan-tests.html?smtyp=cur&smid=tw-nythealth>). Cependant les modalités de cette stratégie n'ont pas été rapportées dans la littérature scientifique.

Sur le plan institutionnel, les CDCs américains présentent un guide provisoire de mise en œuvre de la procédure pour le poolage des échantillons respiratoires pour la détection de l'ARN du SARS-CoV-2. La validation de la technique de poolage des échantillons dans un laboratoire doit prendre en compte plusieurs critères : la prévalence de l'infection, la taille du pool, les performances des tests moléculaires utilisés, ainsi que les conséquences en termes de délai de rendu des résultats. La procédure doit être soumise à la FDA par le laboratoire pour validation (19) (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/pooling-procedures.html>). La FDA, dans la mise à jour du 18 juillet 2020 relative à la facilitation d'accès aux tests diagnostiques, dont la question du poolage d'échantillons, a autorisé l'utilisation du test moléculaire « Quest »¹ pour la détection de l'ARN de SARS-CoV-2 à partir de pool de 4 échantillons naso- ou oro-pharyngés (20,21). Ce test moléculaire qualifié de test d'orientation diagnostique est également autorisé aux Etats-Unis pour la détection de l'ARN viral à partir d'échantillons naso-pharyngés individuels collectés à domicile (auto-prélèvements). Ce test n'est pas disponible en Europe. L'American Society for Microbiology indique que la stratégie du poolage d'échantillons doit également s'accompagner d'une réflexion générale (quelle population tester, avec quelle fréquence) et d'une facilitation de la démarche logistique (recueil et acheminement des échantillons, plateforme diagnostique de grande capacité) (22).

A l'heure actuelle, les réserves relatives à la mise en œuvre de la stratégie de poolage d'échantillons présentées dans l'avis du HCSP du 10 mai 2020 (14) n'ont pas été levées, que ce soit en termes d'organisation ou en termes de rendu de résultats.

Alors que l'incidence de l'infection SARS-CoV-2 est à nouveau en augmentation en France, le risque serait de sous-estimer cette incidence par défaut de sensibilité diagnostique de la technique moléculaire par pool d'échantillons.

Le HCSP rappelle ci-dessous les recommandations qu'il avait émises dans son avis du 10 mai 2020 :

- Il ne convient pas de mettre en œuvre la pratique du poolage pour la détection du génome du virus SARS-CoV-2 dans les prélèvements respiratoires, en particulier dans la période immédiate de déconfinement, compte tenu de nombreuses incertitudes, notamment en termes de délai de rendu de résultats, de perte de sensibilité et de difficultés inhérentes à la gestion du test de RT-PCR au laboratoire de virologie ;
- la détection du génome viral du SARS-CoV-2 doit être réalisée par RT-PCR individuelle dans le cadre des recommandations du diagnostic virologique ;
- la technique de séquençage à haut débit permettant de tester un très grand nombre d'échantillons doit pouvoir être évaluée comme une alternative envisageable à moyen terme en fonction de développements technologiques et informatiques pour l'analyse de résultats en très grand nombre.

¹ Il s'agit d'un test qualitatif de détection de l'ARN du SARS-CoV-2 à partir d'échantillons respiratoires hauts ou bas

Le HCSP recommande :

- Pour les prélèvements réalisés par un opérateur externe, le HCSP recommande en priorité **les prélèvements naso-pharyngés** qui sont plus simples à réaliser et mieux standardisés que les prélèvements oro-pharyngés postérieurs. Il rappelle la nécessité de former les opérateurs à cette technique de prélèvement et la nécessité qu'ils portent des équipements de protection individuelle (EPI) adéquats pour garantir leur protection. Ces prélèvements restent les seuls recommandés **à titre diagnostique** pour documenter une infection à SARS-CoV-2.
- En ce qui concerne les auto-prélèvements, le HCSP recommande la mise en place d'études comparatives portant sur les prélèvements salivaires ou les prélèvements oro-pharyngés postérieurs sous l'égide du CNR des virus des infections respiratoires (dont la grippe), de manière à évaluer la sensibilité clinique de ces prélèvements dans le but de dépister plus facilement les sujets asymptomatiques présentant une infection active, notamment dans les situations où un dépistage en urgence est requis (professionnels de santé, retour de voyage, risque nosocomial avéré ...). Dans ces mêmes indications, le HCSP encourage l'évaluation rigoureuse de toute nouvelle technologie permettant un diagnostic accéléré avec une sensibilité clinique acceptable.
- Le HCSP déconseille toute initiative non concertée visant à l'introduction de techniques ou de modalités de prélèvements insuffisamment évaluées au seul prétexte de raccourcir le délai de rendu des résultats.
- Le HCSP met en garde vis-à-vis de certains effets d'annonce à propos de technologies qui n'ont pas fait l'objet d'une évaluation rigoureuse ou d'un avis motivé du CNR des virus respiratoires (dont la grippe).
- En ce qui concerne le pooling des échantillons, après avoir évalué les nouvelles publications disponibles depuis son précédent avis du 10 mai 2020, le HCSP considère qu'il n'y a aucun élément nouveau permettant de recommander cette pratique. Au contraire, elle serait de nature à rallonger les délais de réponse des échantillons positifs, notamment dans une phase où, après une baisse notable de la circulation virale au sortir de la phase de déconfinement, l'incidence des nouvelles infections est à nouveau en augmentation sur le territoire national. Une autre limite de ce type de pratique serait par ailleurs un risque d'augmentation de rendu de résultats faussement négatifs du fait d'une baisse de sensibilité.
- Enfin, le HCSP recommande la mise en place d'une réflexion multidisciplinaire entre virologues, cliniciens et épidémiologistes afin de définir quelle serait la perte de sensibilité analytique acceptable au regard des modalités de prélèvements (auto-prélèvements notamment) et/ou des techniques permettant de répondre aux exigences de santé publique en termes de volume de dépistage et de raccourcissement des délais de rendu des résultats.

Ces recommandations, élaborées sur la base des connaissances disponibles à la date de publication de cet avis, peuvent évoluer en fonction de l'actualisation des connaissances et des données épidémiologiques.

Avis rédigé par un groupe d'experts, membres ou non du Haut Conseil de la santé publique.

Validé le 11 août 2020 par le président du Haut Conseil de la santé publique

Références

1. Wang H, Liu Q, Hu J, et al. Nasopharyngeal Swabs Are More Sensitive Than Oropharyngeal Swabs for COVID-19 Diagnosis and Monitoring the SARS-CoV-2 Load. *Front Med.* 2020;7:334.
2. Lan L, Xu D, Ye G, Xia C, Wang S, Li Y, et al. Positive RT-PCR Test Results in Patients Recovered From COVID-19. *JAMA [Internet].* 27 févr 2020 [cité 14 mars 2020]; Disponible sur: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762452>
3. Haut Conseil de la santé publique. Avis du 10 juin 2020 relatif à la conduite à tenir face à un résultat de RT-PCR positif chez une personne ayant des antécédents d'infection par le SARS-CoV-2. [Internet]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=886>
4. Williams E. Saliva as a Noninvasive Specimen for Detection of SARS-CoV-2 | *Journal of Clinical Microbiology [Internet].* [cité 6 août 2020]. Disponible sur: <https://jcm.asm.org/content/58/8/e00776-20>
5. Becker D. Saliva is less sensitive than nasopharyngeal swabs for COVID-19 detection in the community setting | *medRxiv [Internet].* [cité 6 août 2020]. Disponible sur: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.05.11.20092338v2>
6. Iwasaki S, Fujisawa S, Nakakubo S, Kamada K, Yamashita Y, Fukumoto T, et al. Comparison of SARS-CoV-2 detection in nasopharyngeal swab and saliva. *J Infect.* 2020;81(2):e145-7.
7. Chen JH-K, Yip CC-Y, Poon RW-S, Chan K-H, Cheng VC-C, Hung IF-N, et al. Evaluating the use of posterior oropharyngeal saliva in a point-of-care assay for the detection of SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect.* déc 2020;9(1):1356-9.
8. Tu Y-P, Jennings R, Hart B, Cangelosi GA, Wood RC, Wehber K, et al. Swabs Collected by Patients or Health Care Workers for SARS-CoV-2 Testing. *N Engl J Med.* 30 2020;383(5):494-6.
9. Cheuk S, Wong Y, Tse H, Siu HK, Kwong TS, Chu MY, et al. Posterior oropharyngeal saliva for the detection of SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 21 juin 2020;
10. Sullivan PS, Sailey C, Guest JL, Guarner J, Kelley C, Siegler AJ, et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA and Antibodies in Diverse Samples: Protocol to Validate the Sufficiency of Provider-Observed, Home-Collected Blood, Saliva, and Oropharyngeal Samples. *JMIR Public Health Surveill.* 24 2020;6(2):e19054.
11. Winichakoon P, Chaiwarith R, Liwsrisakun C, Salee P, Goonna A, Limsukon A, et al. Negative Nasopharyngeal and Oropharyngeal Swabs Do Not Rule Out COVID-19. *J Clin Microbiol.* 23 2020;58(5).
12. Loeffelholz MJ, Tang Y-W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect.* déc 2020;9(1):747-56.
13. Sheridan C. Fast, portable tests come online to curb coronavirus pandemic. *Nat Biotechnol.* 2020;38(5):515-8.
14. Haut Conseil de la Santé Publique. Avis du 10 mai 2020 relatif à la pertinence du poolage des tests de recherche du SARS-CoV-2 par RT-PCR [Internet]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/AvisRapportsDomaine?clefr=828>

15. Gupta E, Padhi A, Khodare A, Agarwal R, Ramachandran K, Mehta V, et al. Pooled RNA sample reverse transcriptase real time PCR assay for SARS CoV-2 infection: A reliable, faster and economical method. PloS One. 2020;15(7):e0236859.
16. Ben-Ami R, Klochendler A, Seidel M, Sido T, Gurel-Gurevich O, Yassour M, et al. Large-scale implementation of pooled RNA extraction and RT-PCR for SARS-CoV-2 detection. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 23 juin 2020;
17. Cherif A, Grobe N, Wang X, Kotanko P. Simulation of Pool Testing to Identify Patients With Coronavirus Disease 2019 Under Conditions of Limited Test Availability. JAMA Netw Open. 01 2020;3(6):e2013075.
18. The New York Times. Here's How Wuhan Tested 6.5 Million for Coronavirus in Days. 3 juin 2020; Disponible sur: <https://www.nytimes.com/2020/05/26/world/asia/coronavirus-wuhan-tests.html?smtyp=cur&smid=tw-nythealth>
19. Interim Guidance for Use of Pooling Procedures in SARS-CoV-2 Diagnostic, Screening, and Surveillance Testing [Internet]. 2020. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/pooling-procedures.html>
20. FDA Issues First Emergency Authorization for Sample Pooling in Diagnostic Testing [Internet]. 2020. Disponible sur: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-issues-first-emergency-authorization-sample-pooling-diagnostic>;
21. Quest diagnostics. SARS-CoV-2 RNA, Qualitative Real-Time RT-PCR (Test Code 39433) Package Insert For Emergency Use Only For In-vitro Diagnostic Use - Rx Only [Internet]. Disponible sur: <https://www.fda.gov/media/136231/download>
22. American Society for microbiology. COVID-19 Pool Testing: Is It Time to Jump In? [Internet]. Disponible sur: <https://asm.org/Articles/2020/July/COVID-19-Pool-Testing-Is-It-Time-to-Jump-In>

Annexe 1 : saisine de la Direction générale de la santé

De : SALOMON, Jérôme (DGS)

Envoyé : mercredi 29 juillet 2020 18:42

À : CHAUVIN, Franck (DGS/MSR/SGHCSP); HCSP-SECR-GENERAL

Objet : Saisine HCSP - intérêt et limites des prélèvements oropharyngés et crachat, analyse par pooling d'échantillons

Importance : Haute

Monsieur le Président, cher Franck,

La stratégie de lutte contre la COVID-19 repose sur la réalisation massive de tests virologiques RT-PCR pour les personnes symptomatiques et leurs contacts (examens à visée de diagnostic) ainsi qu'en population générale et autour des zones de sur-incidence ou de cluster afin de détecter des cas asymptomatiques susceptibles de participer à l'établissement ou au maintien de chaînes de transmission.

Afin d'optimiser cette stratégie en rendant le test toujours plus facile d'accès et simple à réaliser, il est nécessaire d'identifier toutes les innovations susceptibles d'apporter une amélioration à ce dispositif. Je souhaite donc recueillir l'avis du Haut Conseil concernant la pertinence des prélèvements oro pharyngés et des prélèvements de crachats. Votre avis devra en préciser l'intérêt, les indications possibles et les limites, dans le cadre du diagnostic des formes symptomatiques, des investigations autour des cas et pour le dépistage de masse.

En complément, dans l'objectif d'augmenter nos capacités à réaliser des tests virologiques et ainsi intensifier les campagnes de dépistage auprès de la population, je sollicite le HCSP afin qu'il puisse étudier la pertinence d'effectuer des analyses sur des pools de prélèvements, en tenant compte des dernières évolutions technologiques qui pourraient être rapidement disponibles.

Je souhaiterais recevoir vos préconisations pour le 12/08/2020.

Je vous prie d'agréer, Monsieur le Président, cher Franck, l'expression de ma considération distinguée.

Amicalement

Professeur Jérôme SALOMON, CMO, MD MPH PhD

Directeur général de la Santé / **Directeur de crise**

Direction Générale de la Santé, DGS, FRANCE



Annexe 2 : composition du groupe de travail

Sibylle BERNARD-STOECKLIN, Santé Publique France

Céline CAZORLA, HCSP

Emmanuel DEBOST, HCSP

Bruno HOEN, HCSP

Sophie MATHERON, HCSP

Elisabeth NICAND, HCSP

Bruno POZZETTO, HCSP, pilote,

Christian RABAUD, HCSP

Personne auditionnée

Vincent ENOUF pour le CNR des virus des infections respiratoires (dont la grippe)

SG-HCSP :

Sylvie FLOREANI

Avis produit par le Haut Conseil de la santé publique

Le 11 août 2020

Haut Conseil de la santé publique

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

www.hcsp.fr