

SYNTHESE

Revue rapide sur les tests RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré de type EasyCoV)

Validée le 27 novembre 2020

Note au lecteur

Cette synthèse contient une revue rapide, systématique de la littérature scientifique portant sur les tests RT-LAMP SARS-CoV-2 sur prélèvement salivaire, hors système intégré de type Easy-CoV (qui fait l'objet d'une évaluation séparée). Cette synthèse compile les informations disponibles à la date du 23 novembre 2020, ayant conduit à l'avis de la Haute Autorité de santé (HAS) du 27 novembre portant sur les tests RT-LAMP sur prélèvement salivaire.

Il est rappelé que les avis de la HAS pris dans le cadre de la pandémie à SARS-CoV-2 sont susceptibles d'être rapidement ou fréquemment modifiés compte tenu de l'évolution rapide des connaissances scientifiques disponibles,

Contexte

L'objectif des tests salivaires rapides par RT-LAMP (amplification isothermique sans extraction d'ARN) serait de faciliter, d'une part, la réalisation des prélèvements (réduction du risque de contamination, moins désagréable pour le patient) et d'autre part, la technique d'analyse et post-analytique (déploiement d'un matériel léger et mobilisable vers un personnel soignant non spécialisé « hors laboratoire », réduction du temps d'analyse et simplification de la lecture du résultat). L'état de la littérature en août 2020 n'avait pas permis de statuer sur la pertinence de l'utilisation de ces tests salivaires rapides dans les conditions réelles d'utilisation.

Description rapide de la littérature internationale disponible

Dans les temps courts impartis, il a été possible de réaliser une recherche documentaire systématique des études cliniques évaluant le test rapide RT-LAMP (sans phase d'extraction et de purification de l'ARN) sur prélèvement salivaire (bases consultées : *Pubmed, Embase, MedRxiv, BioRxiv*).

Une recherche bibliographique a été conduite de décembre 2019 jusqu'au 23 novembre 2020. Au total, 202 références ont été consultées sur titre et résumé. A l'issue de cette phase, 11 articles ont été examinés *in extenso*.

Les critères explicites utilisés pour la sélection des études ont été colligés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 1. Critères de sélection des études.

| | |
|-----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Critères d'inclusion | <ul style="list-style-type: none"> – Test moléculaire par RT-LAMP sans extraction-purification de l'ARN au niveau de la salive ; – Cohorte prospective de diagnostic (si symptômes) ou de dépistage (en l'absence de symptômes) et dont le statut COVID-19 est inconnu à l'inclusion ; – Comparaison directe à la RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé (écouvillon) réalisé par un professionnel de santé (seul comparateur de référence en France) |
| Critères d'exclusion | <ul style="list-style-type: none"> – Etudes de surveillance à distance de cas positifs connus, revues systématiques, séries de cas, études cas-témoin (notamment si patient hospitalisé) – Statut COVID-19 du patient ou schéma prospectif non rapporté par les auteurs – Comparateur non préconisé comme référence en France (RT PCR salivaire notamment par exemple) – Aucune performance clinique rapportée ou calculable à l'aide d'un tableau de concordance ; – Population incluse mélangée avec analyse indifférenciée (symptomatique/asymptomatique) – Seuil d'amplification des cas positifs excessif (ct value > 40) – Étude du poolage de prélèvements salivaires – Comparaison directe d'autres techniques d'amplification rapide sur la salive |

Au final, deux études prospectives ont été retenues en phase de lecture *in extenso* des publications éligibles sur la base des critères explicites de sélection (Tableau 1).

La concordance positive¹ (*positive agreement, C+*) et la concordance négative² (*negative agreement, C-*) entre le nouveau test (*test salivaire rapide par RT LAMP*) et le test de référence habituellement préconisé (RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé = *standard of care*) sont les indicateurs les plus robustes³ pour déterminer si le nouveau test peut devenir une alternative acceptable en pratique courante.

1. Tests salivaires rapides (RT LAMP) pour le dépistage de sujets asymptomatiques (n= 0 étude retenue)

Aucune évaluation probante et pertinente de la RT LAMP rapide dans la salive n'a pu être identifiée dans la littérature à ce stade.

A titre d'information, une série de cas de faible effectif (n=15) a permis de rapporter une concordance positive de 60% IC 95% [32 – 84] par rapport à la RT PCR sur prélèvement naso ou oropharyngé⁴ (Nagura-Ikeda et al, 2020).

2. Tests salivaires rapides (RT LAMP) pour le diagnostic de sujets symptomatiques (n= 2 études retenues)

La phase préliminaire de sélection a permis d'identifier onze études évaluant un test salivaire rapide par RT LAMP ; toutefois, seulement deux études (sous forme de prépublication⁵) ont pu être retenues au regard des critères explicites de sélection (Tableau 1). **Les motifs d'exclusion (et le cas échéant,**

¹ Appelée à tort « sensibilité » par certains auteurs

² Appelée à tort « spécificité » par certains auteurs

³ en l'absence de « gold standard » réalisé ou éthiquement réalisable pour déterminer le statut Covid du patient dans les études

⁴ La concordance négative n'a pas été rapportée par les auteurs

⁵ Consultable sur le site MedRxiv.

les performances cliniques par rapport à la RT PCR nasopharyngée) des neuf autres publications figurent en Annexe.

Ces deux études ont recruté prospectivement des patients au statut Covid inconnu exclusivement symptomatiques.

L'étude monocentrique américaine de Wei et al, 2020 (n= 149) rapporte les performances suivantes : C+ : 100 % IC 95% [51 – 100] sur n= 4 patients Covid + & C- : 100% IC 95% [76 – 100] sur n= 12 patients non Covid + (échantillon aléatoire).

L'étude monocentrique brésilienne Asprino et al, 2020 (n= 244) rapporte les performances suivantes : C+ : 75% IC 95% [64 – 84] sur 65 patients Covid + & C- : 94% IC 95% [89 – 96,5] sur n= 179 patients non Covid +.

Les performances poolées des tests salivaires rapides par RT LAMP sur prélèvements cliniques sont celles rapportées à ce stade par Asprino et al. 2020 ; en raison des effectifs relativement faibles de cas analysés dans la seconde étude (Wei et al. 2020) par rapport à l'étude brésilienne.

En population symptomatique (≤ 7 jours du début des symptômes), les résultats montrent à ce stade des performances cliniques inférieures aux seuils de validation de la HAS de septembre 2020 (sensibilité, spécificité) pour décider d'utiliser avec sécurité un test rapide (POC) en alternative de la RT PCR de référence⁶ lorsque ce dernier n'est pas rapidement accessible.

Les principaux résultats de ces deux études retenues figurent dans le Tableau 2.

Tableau 2. Résultats des deux études prospectives retenues (patients exclusivement symptomatiques)

| Référence étude | Asprino et al. (2020) ; pré-print | Wei et al. (2020) ; pré-print |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Contexte de réalisation | Diagnostic (≤ 7 jours du début des symptômes) | Diagnostic (délai après le début des symptômes non rapporté) |
| Nombre de patients inclus/centre | N= 244 (monocentrique) | N= 149 (monocentrique) |
| Prévalence des cas dans l'étude | 26 % | 2,7 % |
| Nature du prélèvement salivaire ; protocole d'amplification et de lecture | Auto-prélèvement, 1mL (1 à 3 jours à température ambiante) Pré-chauffage 98°C (5 minutes), chauffage 63°C (30 minutes), arrêt de la réaction 80°C (5 minutes) (two step) Lecture par fluorescence | Auto-prélèvement, 1mL (conservation : -80°C) Chauffage à 63°C (30 minutes) Lecture colorimétrique |
| Nature du gène ciblé en RT LAMP salivaire | Gène de la nucléocapside (six amorces) | NR : SARS-Cov-2 reference genome NC_045512v2 ? |
| Nombre de cibles du comparateur en RT PCR | NR ('examen de routine') | 2 cibles (N1 & N2) ; RNase (contrôle) |
| Seuil d'amplification (seuil de positivité) du comparateur de référence en RT-PCR (Ct value) | NR | NR |

⁶ Sensibilité/concordance positive observée > 80 % (désirable) avec une borne inférieure de l'IC 95% ne franchissant pas 70 % (acceptable). Selon la même méthode, une Concordance négative/spécificité observée ≥ 99 % (avec une borne inférieure de l'IC 95% ne franchissant pas 97%) serait nécessaire.

| Référence étude | Asprino et al. (2020) ; pré-print | Wei et al. (2020) ; pré-print |
|---------------------------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Concordance positive (patients positifs selon le comparateur) | 75% IC [64%-84%] * | 100% IC [51%-100%] * # |
| Concordance négative (patients négatifs selon le comparateur) | 94 % IC [89% – 96,5%] * | 100% IC [76% - 100%] * |

* Si la prévalence et les taux de concordance avec leur intervalle de confiance n'étaient pas fournis ou inadaptés dans la publication, l'estimation a été réalisée par la HAS à l'aide d'un tableau de concordance et du test de Wilson sans correction de continuité ; # estimation sur un échantillon de 12 patients négatifs sélectionnés aléatoirement par les auteurs ; NR : donnée non rapportée ; IC : Intervalle de confiance à 95% ; £ aucun cas détecté chez les 62 asymptomatiques (donnée non exploitable)

Conclusion

La détection du génome du virus SARS-CoV-2 sur prélèvement nasopharyngé reste le test de référence pour le diagnostic et le dépistage de l'infection à SARS-CoV-2 compte tenu de son efficacité en termes de sensibilité et de spécificité. Toutefois son caractère invasif limite son acceptabilité par les patients. Le test RT-LAMP réalisé sur prélèvement salivaire aurait pu être très intéressant compte tenu de sa moindre invasivité et de sa plus grande rapidité comparé au test de référence.

Toutefois, considérant que, pour les patients symptomatiques, les performances diagnostiques désormais disponibles du test de détection du génome du virus SARS-CoV-2 par technique RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré) sont insuffisantes (sensibilité clinique de 75% et spécificité clinique de 94%) par rapport aux performances minimales requises par la Haute Autorité de santé (sensibilité clinique de 80% et spécificité clinique de 99%) et considérant l'absence de données cliniques robustes de performances diagnostiques de cet acte pour les personnes asymptomatiques;

La Haute Autorité de santé considère qu'il n'y a pas lieu de détecter le génome du virus SARS-CoV-2 par technique RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré).

En fonction de l'évolution des connaissances scientifiques, cette position sera susceptible d'être revue.

Annexe. Motifs d'exclusion et performances cliniques des neuf études non retenues au 23 novembre 2020 évaluant le test rapide de RT LAMP salivaire (sans extraction d'ARN)

Etudes cas-témoin (enrichi) : RT LAMP vs RT PCR oro/nasopharyngé par écouvillon :

| Références des études | Motifs d'exclusion |
|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| L'Helgouach et al. 2020. (prépublication) | Cas témoin chez des patients hospitalisés au statut Covid connu. Résultats intermédiaires de l'étude EasyCov. Préparation de l'échantillon salivaire plus utilisée à ce jour (méthode 1) Performances cliniques : C+ : 73 % ; IC 95% [44%- 90%] C- : 96% ; IC 95% [89% – 98%] |
| Nagura-Ikeda et al. 2020. | Série de cas (patients symptomatiques hospitalisés ; n=61) Série de cas (asymptomatiques ; n=15) Performances cliniques : C+ (sympto) : 85% ; IC 95% [74%-93%] C+ (asympto) : 60% ; IC 95% [32% – 84%] |
| Dudley et al, 2020. (prépublication) | Cas témoin avec des patients au statut Covid connu de faible effectif Performances cliniques non rapportées et non calculables |
| Ben-Assa et al. 2020 | Cas témoin avec patients au statut Covid connu (n=83) Performances cliniques (RT LAMP sur 40 minutes, Ct value < 35) : C+ : 81% ; IC 95% [68% - 89%] -> C+ 71 % (si RT LAMP 30 minutes) C- : 97% ; IC 95% [83% - 99%] – C- idem (si RT LAMP 30 minutes) |
| Fowler et al, 2020 (prépublication) | Cas témoin avec patients au statut Covid connu (n=14) Performances cliniques : C+ 25% ; IC 95% [7 – 59%] C- 100% ; IC 95% [61% – 100%] |

Certaines performances cliniques avec leur intervalle de confiance ont pu être estimées par la HAS à l'aide d'un tableau de concordance 2x2 et du test de Wilson sans correction de continuité (recommandé pour l'estimation de l'IC95% dans le champ du test diagnostique) ; calculateur en ligne : <https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion>

Etudes cas-témoin (enrichi) : RT LAMP vs RT PCR salivaire ou nasal ou nature indéterminée

| Références des études | Motifs d'exclusion |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Flynn et al. 2020 | N=34 ; Prévalence : 41% Performances cliniques (sur 45 minutes) : C+ : 93% ; IC 95% [68% – 99%] C- : 100% ; IC95% [84% -100%] Comparateur : RT PCR salivaire |
| Taki et al. 2020 | N= 31 ; prévalence : 55% |

Ce document présente les points essentiels de la publication : Revue rapide sur les tests RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré de type EasyCoV), Méthode, 27 novembre 2020
Toutes nos publications sont téléchargeables sur www.has-sante.fr

| | |
|------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| | <p>Performances cliniques (sur 30 minutes) :</p> <p>C+ : 47% ; IC 95% [26% -69%]</p> <p>C- : 100% ; IC 95% [78% – 100%]</p> <p>Comparateur : RT PCR salivaire</p> |
| Yamazaki et al. 2020 (prépublication) | <p>N=44</p> <p>Performances cliniques :</p> <p>C+ : 82,6% IC95% [63% - 93%]</p> <p>C- : 100% IC95% [84% - 100%]</p> <p>Comparateur : RT PCR salivaire</p> |
| Bramley et al. 2020 (prépublication) | <p>N= 117 ; Prévalence : 39%</p> <p>Performances cliniques :</p> <p>C+ : 87% ; IC95% [74% - 94%]</p> <p>C- : 96% ; IC95% [88% - 98,5%]</p> <p>Comparateur : nasopharyngé ou salivaire (RT PCR)</p> |
| Lalli et al. 2020 | <p>N=30</p> <p>Performances cliniques :</p> <p>C+ : 85% ; IC95% [64% - 95%]</p> <p>C- : 90% ; IC95% [60% – 98%]</p> <p>Nature du comparateur non rapportée</p> |
| Ganguli et al. 2020 | <p>N= 34 ; Prévalence : 62%</p> <p>Performances cliniques (sur 80 minutes avec optimisation en 2 temps) :</p> <p>C+ : 100 % IC 95% [84% – 100%]</p> <p>C- : 76,9 % IC 95% [50% – 92%]</p> <p>Comparateur : RT PCR nasale</p> |

Certaines performances cliniques avec leur intervalle de confiance ont pu être estimées par la HAS à l'aide d'un tableau de concordance 2x2 et le test de Wilson sans correction de continuité (recommandé pour l'estimation de l'IC95% dans le champ du test diagnostique) ; calculateur en ligne : <https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion>