

AVIS

relatif à l'actualisation des recommandations relatives au poolage dans le cadre du diagnostic et du dépistage du Covid-19

17 décembre 2020

Le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a été saisi par la Direction générale de la santé (DGS) par courriel daté du 30 novembre 2020 [annexe 1].

La DGS souhaite, dans l'objectif d'assurer un meilleur contrôle de la circulation virale, obtenir une actualisation des recommandations des 10 mai et 11 août 2020 [1,2] relatives au poolage des tests RT-PCR SARS-CoV-2, sachant que de nouvelles techniques diagnostiques permettent de réduire la perte de sensibilité pouvant être associée au poolage.

La DGS sollicite l'expertise du HCSP afin de disposer de recommandations actualisées particulièrement dans un contexte d'actions de dépistage de masse, ces recommandations devront être adaptées au niveau de circulation virale.

Dans le contexte de la pandémie de Covid-19, le HCSP a réactivé le groupe de travail (GT) « grippe, coronavirus, infections respiratoires émergentes ». Le sous-groupe travaillant plus particulièrement sur les aspects diagnostiques dans le Covid-19 [annexe 2] s'est réuni à plusieurs reprises afin de produire le présent avis.

Le groupe de travail a auditionné ou sollicité pour une contribution :

- la Haute Autorité de santé sur les critères techniques des tests à utiliser dans le cadre d'actions de dépistage à large échelle ;
- la Société française de microbiologie sur les capacités des laboratoires de biologie médicale à mettre en œuvre le poolage des échantillons ;
- les représentants des ARS Auvergne-Rhône-Alpes, Hauts de France et Normandie à l'issue des annonces faites sur le dépistage de masse dans une ville de chacune de ces régions ;
- un praticien spécialiste de santé publique d'une des villes concernées par le dépistage de masse.

Situation épidémiologique

Après une dégradation importante des indicateurs depuis septembre 2020, la semaine 45 a été marquée par un ralentissement de la circulation du SARS-CoV-2 ; cette tendance s'est poursuivie en semaine 46 et 47 avec une baisse du nombre de nouveaux cas confirmés.

La semaine 49 (du 30 novembre au 06 décembre) est toutefois marquée par une évolution préoccupante de l'épidémie, du fait d'une très faible diminution de la circulation du SARS-CoV-2 en France, en effet, après quatre semaines de forte décroissance de l'épidémie, un net ralentissement de la diminution des nouvelles contaminations de SARS-CoV-2 est observé en semaine 49.

Les indicateurs se maintiennent à un niveau élevé et, en semaine 49, comme la semaine précédente, plus de 10 000 nouveaux cas de COVID-19 étaient confirmés, en moyenne, chaque jour en France. On note en particulier :

- Une stabilisation du taux de positivité des tests de détection du SARS-CoV-2.
- Une diminution très modérée du nombre des hospitalisations et des admissions en réanimation.
- Une stabilisation de l'évolution des principaux indicateurs de l'activité de suivi des contacts.
- Un maintien des indicateurs à un niveau élevé.

Le HCSP a pris en compte

1. Les avis des 10 mai 2020 et 11 août 2020 relatifs au poolage des échantillons [1,2]

2. Les publications relatives 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 et d'augmenter la cadence des dépistages.

2.1 Rappel des publications relatives au poolage analysées dans les avis antérieurs

- Hogan et al. rapportent les résultats d'une étude rétrospective portant sur tous les prélèvements naso-pharyngés et de liquides de lavage broncho alvéolaire (LBA) reçus du 1^{er} janvier au 26 février 2020 pour lesquels la recherche de virus, à l'exclusion du SARS-CoV-2 (période pré-épidémique dans la région pour cet agent), était négative [3]. Un total de 292 pools de 9 à 10 échantillons, chacun représentant 2 888 échantillons (2 740 prélèvements naso-pharyngés et 148 LBA), a été testé par amplification génique (RT-PCR) ciblant les gènes S et de l'ARN polymérase ARN-dépendante du SARS-CoV-2. Cette approche a permis d'identifier 2 échantillons positifs pour les 2 cibles sur les 2 888 échantillons testés ; un troisième échantillon a été trouvé positif pour une seule cible et cette positivité n'a pas été confirmée après un nouveau test. Cette étude est monocentrique et reste limitée dans le temps. Mais elle démontre la capacité de la stratégie du poolage d'échantillons à détecter un petit nombre d'échantillons positifs avec un minimum de moyens techniques.
- Une autre étude présentée par Lohse et al. [4] a comparé les résultats de la détection de l'ARN du virus SARS-CoV-2 par RT-PCR sur 1 191 prélèvements naso-pharyngés techniques individuellement et par pool. L'étape d'extraction des acides nucléiques a été réalisée sur chaque échantillon AVANT amplification. Puis les extraits d'acides nucléiques ont été groupés, chaque pool contenant 4, 5, 6, 10, 15, 20 ou 30 échantillons pour l'étape d'amplification ciblant les gènes E et S. Les pools positifs ont été testés à nouveau individuellement. Des différences de 0 à 5 Ct (cycle threshold, soit le nombre de cycles minimal pour lequel l'ARN amplifié est détectable) ont été observées entre les

échantillons groupés et les échantillons individuels ; tout échantillon détecté positif individuellement a été également détecté en pool de 30. Le taux de positivité dans la population testée était de 4,24 % pendant la période de l'étude. En utilisant des pools de 30, cette stratégie a permis d'économiser plus de 800 tests RT-PCR (267 tests au lieu de 1191) pour identifier 24 échantillons positifs. Il est rappelé qu'un log₁₀ de charge virale correspond à un peu plus de 3 Ct. C'est pourquoi cette approche peut conduire à rendre faussement négatif un échantillon présentant une charge virale faible, proche du seuil de détection (en pratique autour de 37 à 40 Ct), ce qui correspond en général aux charges virales observées dans des échantillons testés au-delà du 14^{ème} jour d'infection. Les limites de cette approche sont principalement la réalisation du poolage d'échantillons après l'étape d'extraction des acides nucléiques qui nécessite une organisation optimale dans la composition de ces pools (identito-vigilance des échantillons) et ne permet pas de s'affranchir de l'étape d'extraction et donc de l'approvisionnement en réactifs d'extraction.

- Une étude présente les résultats de l'utilisation d'une application web pour définir la taille optimale des poolages d'échantillons afin d'économiser un maximum de tests en prenant en compte la prévalence de positivité attendue, le seuil de détection et les performances analytiques de sensibilité et spécificité [5]. Avec une prévalence de positivité des tests de 5 %, un seuil de détection de 1 à 3 copies d'ARN par μL , une sensibilité supérieure à 95 % et une spécificité de 100 %, la taille optimale de ces pools est de 5 échantillons, soit une réduction théorique du nombre de tests de 57 % par rapport à une approche unitaire (en incluant le nombre de tests réalisés secondairement sur chaque échantillon lorsqu'un pool est positif). Le test utilisé dans cette étude est celui recommandé par les CDC américains, utilisant deux cibles différentes du gène de la nucléoprotéine N. A partir de ce calcul, 25 pools de 5 prélèvements naso-pharyngés testés précédemment individuellement incluant un échantillon positif et 4 échantillons négatifs ont été constitués. À la différence de l'étude présentée par Lohse et al, les pools ont été constitués AVANT l'étape d'extraction des acides nucléiques ; puis le produit d'extraction du pool a été testé par RT-PCR comme décrit précédemment. Pour les 25 pools testés (incluant 14 échantillons avec des valeurs de Ct > 30), tous les échantillons positifs ont été détectés avec des différences de valeurs de Ct comprises entre 0 et 5,03 par rapport à la méthode individuelle. Cette stratégie a permis une économie de réactifs d'extraction et d'amplification de 133 % pour des pools de 5 échantillons. Cette économie peut atteindre 400 % avec des pools de 11 échantillons lorsque la prévalence d'échantillons positifs, observée dans la population, est de l'ordre de 1 %.
- Une étude [6] montre que l'utilisation de pools de 32 échantillons extraits individuellement AVANT l'étape d'amplification conduit à un taux estimé de faux négatifs (perte de sensibilité) de 10 % en utilisant 5 échantillons dont le Ct individuel pour chaque échantillon est compris entre 19 et 27, c'est-à-dire une quantité d'ARN détectable relativement élevée. Les auteurs suggèrent d'augmenter le nombre de cycles de RT-PCR pour abaisser le seuil de positivité afin de réduire le nombre de faux-négatifs.
- 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) [7]. Le point fort présenté par les auteurs est la possibilité de réaliser le pool sur les extraits d'ARN et non directement sur les prélèvements. En effet, 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 pools 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 testés individuellement en parallèle), soit un risque très acceptable dans une démarche de dépistage à large échelle [5].

- En termes de pratique sur le terrain, lors de vastes campagnes de dépistage, la stratégie du pooling d'échantillons a été mise en œuvre à Wuhan, permettant de tester près de 6,5 millions de personnes en 2 semaines [8]. Cependant les modalités de cette stratégie n'ont pas été rapportées dans la littérature scientifique.
- D'autres auteurs proposent des approches technologiques très différentes supportées par des plateformes analytiques de très grande capacité permettant des poolages massifs d'échantillons (de l'ordre de 100 000).
 - Dans une étude, les échantillons sont identifiés par un code-barres moléculaire au cours d'une amplification de type RT-LAMP ; ils sont ensuite poolés et la recherche de l'agent infectieux, voire de plusieurs agents infectieux dans le même test, est réalisée par un séquençage haut débit par technique Illumina. Cette approche permet, sans démembrer le pool, d'identifier grâce au code-barres, les échantillons positifs au sein du pool. Elle requiert néanmoins la validation de plusieurs étapes pour réaliser un dépistage de masse : marquage au cours de l'étape d'amplification des échantillons, acheminement des échantillons marqués sur les plateformes analytiques, identité-vigilance des échantillons avec des algorithmes éprouvés, délais de rendu de résultats.
 - Une technologie très similaire dite LAMPORE qui couple une amplification de type RT-LAMP et un séquençage haut débit par technique Nanopore, a été testée au Royaume-Uni pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 ; elle a montré des performances équivalentes à celles de la RT-PCR [9].
- Différents articles de modélisation ont été proposés pour évaluer la taille des pools :
 - Le premier montre qu'un modèle mathématique permet d'estimer le nombre et la taille optimale des pools d'échantillons à tester pour évaluer la prévalence d'échantillons positifs au sein d'une population [10]. L'exemple présenté montre que le pooling de 208 prélèvements répartis par pools de 32 permet de faire la différence entre une prévalence de positifs de 1 % et une prévalence de 5 % avec une probabilité de détection de 96 % (sensibilité) et un risque d'erreur de 2 % (spécificité de 98 %). En période de faible circulation virale, cette stratégie permettrait de réduire très sensiblement le nombre de tests nécessaires pour évaluer la prévalence de l'infection à l'échelle populationnelle. Toutefois, ce modèle ne prend pas en compte la nature de l'échantillon (respiratoire, selles) ni la question relative à l'étape d'extraction des acides nucléiques avant ou après la constitution de pools.
 - Le deuxième article propose un autre algorithme complexe [11] pour évaluer la taille des pools d'échantillons permettant d'estimer la circulation virale dans une population. Cependant, l'étude est davantage centrée sur l'originalité du modèle que sur sa capacité à proposer des alternatives à l'approvisionnement en réactifs de RT-PCR à l'heure de la pandémie de SARS-CoV-2.
 - 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 également fait l'objet de modélisations évaluant le risque de faux négatifs [12].

2.2 Synthèse des publications relatives au poolage publiées depuis le 11 août 2020

- Les publications analysent le plus souvent l'intérêt du poolage des échantillons en termes d'économie de ressources de réactifs mais abordent peu souvent la chaîne logistique lors de la réalisation de dépistages à large échelle. C'est ce que rappelle l'Organisation mondiale de la santé (OMS) à partir de modèles. La stratégie de poolage de 3 à 25 échantillons prélevés dans une population dont la prévalence de l'infection par le SARS-CoV-2 est de 1 à 5 % permet d'économiser 25 à 80 % de réactifs par comparaison à ce qui serait consommé par le dépistage individuel de chaque échantillon [13].
- La stratégie du poolage des échantillons était à nouveau à l'étude en Allemagne au moment de la baisse de la circulation du SARS-CoV-2. Une étude précédemment conduite à l'Institut de Virologie d'Hambourg et présentée dans l'avis du HCSP du 10 mai 2020 [1] avait évalué l'intérêt du poolage jusqu'à 30 échantillons pour détecter le SARS-CoV-2 par amplification génique chez des personnes asymptomatiques ((taux de positivité des échantillons testés de 1,93 %) [4]. Dans cette publication récente, il s'agit d'évaluer la pertinence d'un questionnaire simple, complété par les personnes qui doivent être prélevées, permettant de guider l'orientation de l'échantillon vers un traitement individuel ou par technique de poolage. Ce questionnaire porte sur la symptomatologie, un possible contact à risque d'exposition avec un cas confirmé, et un antécédent de voyage dans une zone où le virus circulerait de manière active. Ainsi 25 978 échantillons pharyngés ont été testés, dont 23,1 % par pools aléatoires et 76,9 % par pools basés sur le questionnaire. Avec un taux de positivité du SARS-CoV-2 de 0,9 %, dans la population testée, le nombre moyen de tests RT-PCR nécessaires pour détecter un échantillon positif est de 0,27 dans le groupe de pools aléatoires et de 0,09 dans le groupe de pools basés sur le questionnaire [14]. Bien que cette stratégie soit efficace pour améliorer les ressources des laboratoires, elle implique en revanche une ressource humaine supplémentaire pour l'exploitation des questionnaires avec le tri des échantillons. Elle paraît peu adaptée à un rendu rapide des résultats.
- En Inde, dans certains districts de l'État de Madhya Pradesh, une étude pilote a été conduite sur le poolage de 5 échantillons de prélèvements naso- et oro-pharyngés pour la recherche de l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-PCR. L'objectif de cette étude était d'évaluer le poolage des échantillons dans une démarche de dépistage à large échelle afin de diminuer la circulation du virus [15]. Les limites étaient la perte de sensibilité, ne permettant pas de détecter au sein du pool un échantillon positif dont la valeur de Ct égale ou supérieure à 34 (avis RT-PCR faiblement positive). Avec une prévalence de l'infection de 4.8 % dans la population testée, sur les 545 prélèvements naso- et oro-pharyngés analysés, le gain a été évalué à 68 % en termes de coût de réactifs et de 66 % en termes de temps d'analyse au laboratoire. La valeur prédictive positive était de 92,3 % (62,6 % - 98,6 %) et la valeur prédictive négative de 95,8 % (90,8 % - 98,2 %). Pour prendre en compte le risque de ne pas identifier un échantillon faiblement positif dans un pool, la stratégie de pooler des échantillons collectés au sein de petites collectivités comme les cellules familiales et non de le faire de manière aléatoire permet de déterminer le niveau global de circulation du virus dans ce groupe de personnes et donc d'adapter les mesures de prévention.
- Le poolage d'échantillons salivaires en alternative aux prélèvements naso-pharyngés a été proposé dans le but d'améliorer l'acceptabilité des personnes asymptomatiques à s'auto-prélever, malgré la perte de sensibilité attendue avec ce type d'échantillons [16]. Cependant aucune étude n'a été publiée dans le cadre de dépistages organisés.

2.3 Place de la technique de poolage des échantillons dans le cadre de dépistages organisés

Le dépistage ciblé par technique de poolage des échantillons a été testé dans un campus américain. Ce dépistage ciblé a concerné plusieurs groupes de personnes : des étudiants asymptomatiques arrivant au campus ou y résidant, toute personne dans le cadre d'un contact-tracing, et des patients symptomatiques [17]. Les étudiants étaient testés 1 à 2 fois par semaine pendant 1 à 2 semaines consécutives. Ces derniers ainsi que le personnel et les enseignants complétaient un questionnaire relatif à la surveillance des signes cliniques au niveau de l'application SymMon tous les jours avant leur arrivée sur le campus (symptom monitoring ; <https://today.duke.edu/2020/07/video-how-use-duke%E2%80%99s-new-covid-19-symptom-monitoring-app>). Ce programme de surveillance comprenait l'auto-prélèvement nasal des étudiants et l'identification des échantillons à partir du scanner du code-barres disponible sur l'application SymMon. Puis les échantillons transférés à un seul laboratoire étaient poolés par 5 à l'aide d'un automate de poolage traitant 120 échantillons répartis dans 24 pools en 13 minutes. Du 2 août au 11 octobre 2020, 68 913 échantillons ont été recueillis dans le cadre du dépistage ciblé dont 59 476 ont été traités par poolage (étudiants asymptomatiques). La détection de l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-PCR a reposé sur l'utilisation d'une technique sensible pour tester les pools, suivie d'une technique très spécifique pour identifier les échantillons positifs testés à partir des pools positifs. A partir des 11 895 pools, le taux de positivité a été de 1,32 % (n=158) pour identifier 29 cas confirmés avec un rendu de résultat dans un délai de 18 à 30 heures pour les pools positifs. Les échantillons positifs étaient inclus dans l'étape du contact-tracing permettant aux étudiants concernés d'avoir connaissance des mesures d'isolement à mettre en œuvre. Cette stratégie s'est avérée efficace du fait de la compliance des étudiants au dépistage (autour de 98 %), de la réalisation d'auto-prélèvements permettant d'alléger le temps de professionnels dédiés à l'étape de prélèvement, de l'acheminement et de la réalisation des tests RT-PCR sur un seul site et de l'utilisation d'une application assurant l'identification des échantillons.

Au Rwanda et en Afrique du Sud, cette approche serait à l'étude, sans résultats publiés à ce jour [18].

2.4 Les recommandations internationales sur le poolage des échantillons

Dans le cadre d'un dépistage à large échelle, les tests utilisés doivent être différents de ceux utilisés pour le diagnostic chez des personnes symptomatiques. Dans la stratégie d'une surveillance de masse, afin de contrôler le niveau de circulation du virus, il s'agit d'avoir recours à des tests faciles à pratiquer, pouvant être réalisés plusieurs fois chez les personnes testées et permettant un rendu rapide des résultats. Dans la démarche diagnostique individuelle, le test utilisé doit avoir une sensibilité analytique élevée pour poser un diagnostic de certitude.

Depuis l'avis du HCSP du 11 août 2020 dans lequel avait été présenté le guide technique de poolage des échantillons par la FDA autorisant l'utilisation du test d'amplification « Quest » permettant la détection de l'ARN de SARS-CoV-2 par pool de 4 échantillons naso-ou oro-pharyngées, aucune agence américaine (FDA, CDCs, National Institute of Health) n'a proposé la mise en œuvre d'une stratégie de dépistage de masse par poolage des échantillons [19] (Mina et al. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMp2025631>). Dans l'État de New York, la possibilité de poolage de 10 à 25 échantillons de salive a été annoncée dans le cadre de dépistage lors de la rentrée universitaire [20].

Les autorités anglaises (Public Health England) ont publié un guide technique décrivant la technique de poolage des échantillons [21]. La stratégie de poolage n'est pas pertinente quand le taux de positivité de la population testée est supérieur à 10 %. Quand ce taux est autour de 1 %, la taille du pool ne doit pas excéder 6 échantillons pour ne pas perdre en sensibilité.

3. Les objectifs du dépistage à grande échelle

3.1 Dépistage de masse non ciblé

Le Conseil Scientifique a précisé, dans une note d'éclairage du 14 novembre 2020 [22] relative à la disponibilité des tests rapides et à la stratégie des tests, sa position à la sortie du confinement relative au dépistage à grande échelle. Le dépistage non ciblé (ou dépistage de masse) a pour objectif d'éliminer ou de diminuer la circulation du virus en isolant un grand nombre de personnes. Ces opérations réalisées avec une logistique de grande envergure ont été conduites en Chine [23], en Slovaquie [24] et à Liverpool [25] à partir de tests unitaires sans avoir recours aux laboratoires de biologie. Pour avoir un impact populationnel chez des personnes asymptomatiques, les actions de dépistage doivent être répétées à intervalle régulier (tous les 15 jours) [22] et la proportion de la population qui va se faire tester doit être élevée, l'acceptabilité étant l'une des premières conditions de succès de cette stratégie.

Selon l'audition ou l'analyse des contributions de trois ARS concernées par les actions de dépistage de masse annoncées dans trois villes métropolitaines françaises, les tests mis en œuvre seront des tests antigéniques associés ou non à des tests de RT-PCR. Le représentant d'une ARS indique que le poolage d'échantillons à partir d'auto-prélèvements salivaires au sein d'une même cellule familiale est prévu dans le protocole. Cette technique de poolage des échantillons va nécessiter la qualification de ce processus par les laboratoires publics ou privés avant la mise en œuvre sur le terrain.

3.2 Dépistage ciblé

La stratégie de dépistage ciblé au sein de collectivités dont le niveau de circulation virale peut être maîtrisé (universités, écoles, entreprises ...) permet d'identifier rapidement des foyers afin de mettre en œuvre les mesures d'isolement adéquates. Dans cette stratégie, l'organisation logistique est plus souple que dans le cadre du dépistage à large échelle non ciblé. Le choix des échantillons à pooler pourrait être envisagée suivant le niveau d'exposition (au sein d'une petite collectivité ou d'une cellule familiale de moins de 5 personnes) et non de manière aléatoire.

4. Critères pour la mise en œuvre d'une technique de poolage des échantillons dans le cadre de dépistage à grande échelle

La **Haute Autorité de Santé** (HAS) souligne que les objectifs d'un dépistage à grande échelle doivent être clairement identifiés. Le dépistage ciblé au sein de collectivités (universités, collectivités fermées) a pour but d'identifier rapidement des foyers de transmission. Dans ce cadre, les tests de dépistage doivent être pratiques à réaliser, les tests de détection antigénique permettant de répondre à cet objectif [26].

Sur saisine du groupe pilote du HSCP concernant le dépistage du SARS-CoV-2 par RT-PCR en pool (groupage des échantillons testés), la Société Française de Microbiologie (SFM) a conduit un sondage numérique sur la période du 3 au 10 décembre 2020 auprès de son réseau de biologistes médicaux (incluant des laboratoires d'analyses médicales de CHU, de CH et des laboratoires privés) afin de faire un état des lieux de la faisabilité de mise en place de ce dépistage massif au sein des structures existantes. Ainsi, des questions concernant la

pré-existence d'une expérience locale de dépistage en pool (automates disponibles et logiciels nécessaires) ont été posées à ce réseau.

Sur l'ensemble des centres interrogés, 48 réponses détaillées ont été obtenues. Aucun des centres ayant répondu n'effectue de dépistage en pool à ce jour. Seul un centre possède actuellement les automates et logiciels nécessaires à la mise en place de ce type de dépistage ; 97,9 % des laboratoires ne semblent pas être préparés dès à présent à effectuer ce type de dépistage en pools. Sur le panel interrogé, 29,2 % (14/48) des laboratoires se déclarent comme pouvant potentiellement mettre en place ce dépistage en pool, le plus souvent si les modalités sont clairement définies avec un soutien fort des instances locales, si des solutions automatisées et informatiques sont installées, et si le contexte épidémiologique est pertinent.

En **pathologie vétérinaire**, les collègues du HCSP audités appartenant aussi à l'Anses ont précisé que le poolage était réservé à la surveillance de la grippe aviaire chez les canards à partir de prélèvements oro-pharyngés ou cloacaux. Les pools sont constitués des prélèvements de 4 canards. Le poolage se fait de façon manuelle. Les résultats sont rendus à l'échelle du pool sans retour individuel au sein du pool en cas de résultat positif. Le délai de rendu des résultats n'est pas un impératif majeur car les mesures à prendre se situent à l'échelle de l'élevage avec abattage de l'ensemble des individus au sein d'un élevage comportant des animaux infectés.

5. 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 technologies, 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 [27].

- 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 1 à 2 heures, au lieu de 4 heures pour les tests moléculaires traditionnels sur le modèle de ceux préconisés par le centre national de référence (CNR) des virus des infections respiratoires dont la grippe. Leur sensibilité est du même ordre de grandeur que celle de la RT-PCR classique en deux étapes. Ils sont plus faciles à réaliser par du personnel de laboratoire non 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 en outre des automates spécifiques dont la disponibilité est également limitée du fait des besoins au niveau international.
- Des tests d'amplification moléculaires basés sur des principes autres que la PCR sont également disponibles pour la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 en routine. L'une des méthodes les plus utilisées est la TMA (transcription-mediated amplification) qui repose sur une amplification de l'ARN (et non de l'ADN comme dans la PCR) en utilisant la combinaison de 2 enzymes : une reverse transcriptase qui génère de l'ADN double brin à partir de l'ARN et une ARN polymérase de type T7 qui génère de l'ARN à haut débit à partir de l'ADN dans lequel a été incorporé un promoteur T7. Cette technique isotherme ne nécessite pas de thermocycleur comme pour la PCR mais ne permet pas de semi-quantification car le signal positif est généré en fin de réaction. Elle est au moins aussi sensible que la RT-PCR et est moins influencée par la présence d'inhibiteurs dans les échantillons. D'autres techniques d'amplification isotherme sont plus expérimentales comme la RPA (recombinase polymerase amplification) ou les techniques de type CRISP-Cas ; elles pourraient s'avérer très prometteuses dans l'avenir du fait de leur grande sensibilité et de leur rapidité d'exécution (de l'ordre d'une heure).

- Des tests commerciaux basés sur le principe de l'amplification isotherme de type LAMP (loop-mediated isothermal amplification) connaissent actuellement un grand essor pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2. Ils sont faciles à réaliser, fournissent un résultat en moins d'une heure, ne nécessitent pas de personnel spécialisé et peuvent être installés en dehors de laboratoires de biologie médicale. Il s'agit de tests individuels, a priori non conçus pour des stratégies de poolage. Leur sensibilité est un peu moindre que celle des tests de RT-PCR mais peut s'avérer suffisante pour identifier les personnes à fort risque de transmission. Outre le risque de faux-positifs, leur principale limite reste la difficulté à les utiliser à grande échelle en raison, comme les précédents tests cités, de capacité de production limitée en regard de la demande, ce qui pourrait conduire à les réserver plutôt à des situations d'urgence, comme par exemple au sein des services d'urgence ou des aéroports au retour de voyages internationaux. La HAS ne recommande pas l'utilisation de cette technique à partir d'échantillons salivaires [28].
- A l'instar de ce qui existe pour d'autres virus respiratoires (virus grippaux, virus respiratoire syncytial, ...), il est désormais possible d'utiliser des tests de diagnostic rapide (TDR) détectant des antigènes de SARS-CoV-2 [29].
Le principal écueil de ces tests est leur manque avéré de sensibilité par rapport aux tests moléculaires, les meilleurs d'entre eux permettant la détection d'échantillons qui, analysés en RT-PCR classique, présentent une valeur de Ct de 30. Cependant, dans le cadre du SARS-CoV-2, ce type de test permet d'identifier rapidement (15 minutes) des personnes présentant des charges virales élevées, notamment dans les services d'urgence ou parmi les personnels soignants afin de prévenir les départs d'épidémie. Ces tests sont unitaires et ne se prêtent pas à des dépistages sur pools en raison de leur moindre sensibilité. La HAS a positionné ces tests pour le dépistage des patients asymptomatiques dans un objectif de santé publique (dépistage de masse et dépistage ciblé). Ces tests peuvent être utilisés par des non biologistes sous forme de tests d'orientation diagnostique (TROD) ou sous forme de tests de diagnostic rapide (TDR) au sein des laboratoires d'analyses médicales.
- Certaines technologies moléculaires plus novatrices et encore expérimentales pour le diagnostic de l'infection à SARS-CoV-2 pourraient dans l'avenir présenter un intérêt dans le cadre des techniques de poolage massif du fait de leur très grande sensibilité. Il s'agit notamment de la PCR digitale et des techniques dites de séquençage de nouvelle génération (NGS pour New Generation Sequencing) :
 - La PCR digitale (dPCR) permet de réaliser simultanément environ 20 000 réactions PCR générées dans une puce microfluidique ou dans un aérosol de gouttelettes micronisées dans une émulsion d'huile. Comme la RT-PCR classique, la PCR digitale en temps réel permet d'obtenir une semi-quantification de la charge virale des signaux PCR. Cette technologie, d'abord utilisée pour des applications environnementales, commence à être adaptée en pathologie humaine pour le diagnostic d'infections à SARS-CoV-2. En raison de la grande sensibilité de la dPCR en temps réel, cette technologie pourrait s'avérer utile dans une stratégie de poolage [31,32].
 - Les techniques NGS permettent de séquencer à haut débit les acides nucléiques présents dans un échantillon environnemental ou clinique. Plusieurs plateformes commerciales sont actuellement disponibles dans les laboratoires de biologie moléculaire. Néanmoins, la limite de la plupart de ces techniques reste actuellement leur délai de réalisation, de l'ordre de 9 à 12 heures, sans compter le temps d'analyse des résultats. La grande sensibilité des techniques NGS pourrait autoriser le poolage de plusieurs milliers de prélèvements à condition de les avoir préalablement identifiés (par exemple grâce à la RT-LAMP). Un exemple d'application des techniques de NGS (système Nanopore) à la détection spécifique de l'infection à

SARS-CoV-2 pour un très grand nombre d'échantillons est déjà rapporté (chapitre 2.1 du présent avis) [9]. Ces approches permettent, sans démembrer le pool, d'identifier grâce au code-barres, les échantillons positifs au sein du pool d'échantillons testés tout en maintenant un haut niveau de sensibilité.

6. Évolution de la situation depuis l'avis du 11 août 2020

6.1 Les points qui restent d'actualité :

La stratégie du poolage ou groupage d'échantillons est une méthode permettant une économie significative du nombre des tests à réaliser sans impacter de façon notable la capacité de détection du virus SARS-CoV-2 pour des charges virales de niveau élevé ou moyen. Le poolage des échantillons peut s'avérer d'un grand intérêt si les réactifs de biologie moléculaire venaient à manquer sur le marché mondial.

La taille optimale des pools d'échantillons des voies respiratoires supérieures se situe entre 5 et 30 échantillons selon la prévalence estimée du SARS-CoV-2 dans la population testée, ce qui peut conduire à faire varier la taille du pool à tester suivant le niveau de circulation du virus. **En pratique, son intérêt est maximal quand la circulation du virus dans la population testée est faible (de l'ordre de moins de 5 % d'échantillons attendus positifs) de façon à n'avoir à tester à nouveau de façon individuelle qu'un minimum de pools positifs (ce qui a comme conséquence néfaste un retard au rendu des résultats positifs).**

Néanmoins, la stratégie de poolage d'échantillons présente en l'état actuel des connaissances et des organisations de laboratoires **de nombreuses limites** :

- au niveau de l'étape pré-analytique :
 - l'identité-vigilance des échantillons composant le pool ;
 - l'organisation du laboratoire de biologie médicale en l'absence d'automatisation pour la constitution des pools ;
 - les facteurs définissant les pools par unité régionale, collectivité ;
 - l'estimation de la prévalence de l'infection à SARS-CoV-2 dans la population testée afin d'utiliser des pools d'échantillons permettant de réduire significativement le nombre de tests.
- au niveau analytique :
 - la constitution des pools en fonction du type d'échantillons (uniquement les prélèvements naso-pharyngés) ;
 - l'évaluation en amont pour chaque laboratoire de biologie des protocoles de RT-PCR suivant les réactifs et les automates utilisés ;
 - l'inclusion de la phase d'extraction avant le poolage (si le poolage est réalisé après la phase d'extraction, perte du contrôle de la qualité du prélèvement) ;
 - le risque de contamination (faux positifs) lors de la gestion de grands nombres d'échantillons ;
 - le risque de faux-négatifs du fait de la perte de sensibilité de quelques Ct.
- au niveau post-analytique :

- le risque d'erreurs dans le rendu de résultats car actuellement la plupart des automates d'extraction et d'amplification sont en connexion bidirectionnelle avec le logiciel de gestion de laboratoire évitant une saisie manuelle du résultat ;
- l'évaluation du retard dans le délai de rendu de résultat pour identifier un échantillon testé positif dans un pool.

Enfin, la HAS ne s'est pas prononcée sur ce type de stratégie diagnostique et ses indications. Par ailleurs, la commission de nomenclature des actes de biologie n'a pas inscrit dans la liste des actes remboursés par la Sécurité sociale, la recherche du génome viral de SARS-CoV-2 par la méthode de poolage d'échantillons, ce qui pose la question de la facturation des actes réalisés de cette manière.

6.2 Changement de paradigme : la sensibilité des tests devient un critère de second plan au regard de leur praticabilité, leurs répétitions et la rapidité de rendu des résultats.

Différentes études remontant au début de l'épidémie [33–35] contribuent à démontrer que la transmission du SARS-CoV-2 n'obéit pas à des règles suivant une distribution normale mais qu'un faible nombre d'individus infectés pendant un laps de temps très court (deux jours avant et cinq jours après le pic de charge virale au niveau oro-naso-pharyngé) est à l'origine de la majorité des événements de contamination. On désigne parfois ces individus par le terme de « super-contaminateur ». Ces observations sont essentielles pour comprendre la diffusion du SARS-CoV-2 et pour essayer de mettre en œuvre des stratégies de dépistage qui identifient les individus les plus à risque de disséminer l'infection.

En parallèle, des travaux récents de modélisation basés sur la cinétique de l'excrétion virale et la durée d'incubation de l'infection à SARS-CoV-2 ont cherché à préciser quel est l'impact de la rapidité de rendu du résultat sur la diminution de la transmission, appréciée par la réduction du R_0 [19,36]. Les auteurs constatent que les exigences propres aux tests de dépistage pour la surveillance et le contrôle de l'épidémie sont différentes de celles des tests de diagnostic clinique. En effet, les tests qui ciblent les personnes symptomatiques nécessitent une sensibilité et une spécificité élevées et ne sont pas limités par le coût. Parce qu'ils sont symptomatiques, ces individus peuvent s'isoler dès l'apparition des symptômes, de telle sorte qu'un diagnostic retardé a moins de répercussion sur la transmission. En revanche, chez les personnes asymptomatiques ou paucisymptomatiques, un retard de rendu de résultat, même très court (un jour), compromet l'efficacité du programme de dépistage, surtout si le sujet est à l'acmé de son excrétion virale. A ce stade, le délai de rendu de résultats est beaucoup plus important que la sensibilité du test car même un test peu sensible sera capable de repérer l'infection. Ces observations conduisent les auteurs à préciser les propriétés qui doivent caractériser les tests destinés aux campagnes de dépistage, à savoir la facilité d'exécution, la rapidité de rendu du résultat, le caractère peu invasif du prélèvement et un coût faible, de manière à faciliter la fréquence de répétition des tests ; en revanche, leur sensibilité passe au second plan. Les auteurs concluent que tels outils pourraient avoir un impact majeur sur la surveillance et le contrôle de l'épidémie. Ils soulignent également qu'un test très sensible comme la RT-PCR détecte également des sujets en fin d'infection, à un stade où ils ne sont plus contagieux, ce qui rend leur isolement inutile et coûteux. L'utilisation d'un test sérologique chez ces sujets pourrait permettre de dater l'infection et de lever les isolements inutiles [36].

Vues sous cet angle, les stratégies ayant recours au poolage dans le cadre de tests destinés aux campagnes de dépistage ne peuvent s'envisager que si elles ne compromettent pas le délai de rendu du résultat. Si la faible perte de sensibilité induite par le poolage n'est plus un inconvénient, il faut s'assurer que les techniques moléculaires sur pools n'ont pas d'impact sur la rapidité de retour du résultat. Toutes les techniques

moléculaires classiques qui nécessitent de tester individuellement les échantillons qui composent le pool quand celui-ci est trouvé positif paraissent peu adaptées à des tests ciblant les sujets asymptomatiques. En revanche, les techniques de PCR digitale ou de séquençage haut débit pourraient, sous réserve d'être plus largement disponibles, devenir d'intéressants outils de surveillance dans la mesure où le « démontage » du pool constitué de très nombreux échantillons ne serait pas nécessaire.

Recommandations du HCSP

1. Dans le cadre d'une démarche diagnostique individuelle chez les personnes symptomatiques avec prise en charge en établissements de soins et établissements médico-sociaux et celles à risque de forme graves

Le HCSP ne recommande pas le poolage des échantillons dans une stratégie de diagnostic individuel du fait de la nécessité d'une technique très sensible et de la contrainte d'un délai de rendu de résultat très court pour l'isolement et la prise en charge de la personne infectée par le SARS-CoV-2.

2. Dans le cadre d'une démarche de dépistage, chez des personnes asymptomatiques ou présentant une symptomatologie bénigne compatible avec une infection par le SARS-CoV-2

- Le HCSP ne recommande pas le poolage des échantillons en période de forte circulation virale, lorsque la prévalence de l'infection est supérieure ou égale à 5 % dans la population testée.
- Dans le cadre d'une moindre circulation du SARS-CoV-2 (prévalence inférieure à 5 % dans la population testée), la stratégie de poolage des échantillons peut être envisagée sous réserve de la qualification de ce processus dans le cadre de la démarche d'accréditation à laquelle les laboratoires de biologie médicale sont soumis et sans allonger les délais de rendu de résultats (moins de 24 heures), ni affecter l'organisation fonctionnelle des laboratoires.
- En cas de recours à un test classique de RT-PCR, un poolage de 5 à 10 échantillons semble pertinent pour limiter le nombre de tests sans trop impacter la valeur prédictive négative des résultats.
- En l'absence d'expérience de terrain des laboratoires sur le poolage des échantillons, le HCSP recommande que des études pilotes puissent être conduites à partir de techniques d'amplification génique en temps réel (RT-PCR classique ou RT-PCR digitale : dPCR). Les objectifs sont d'évaluer leur faisabilité en dépistage de masse ou ciblé et de maîtriser (i) les différentes étapes du circuit des échantillons, de la collecte au traitement analytique, (ii) le délai de rendu biologique du résultat et (iii) son traitement sur le plan épidémiologique pour la mise en œuvre des mesures d'isolement. Dans cette phase, le HCSP recommande de s'appuyer sur les laboratoires ayant la capacité à traiter un très grand nombre d'échantillons.
- Les techniques couplant une amplification avec marquage moléculaire des échantillons et un séquençage à haut débit (NGS) doivent pouvoir être évaluées dans des laboratoires experts comme une alternative envisageable à moyen terme en fonction de développements technologiques et informatiques pour la réalisation de tests à visée épidémiologique en très grand nombre (plusieurs centaines ou plusieurs milliers).

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.

Avis validé le 17/12/2020 par le bureau du Collège du Haut Conseil de la santé publique, 8 membres présents sur 9 au moment du vote, 1 non participation au vote¹, 7 votes pour, 0 vote contre, 0 abstention.

Références

1. 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>
2. Haut Conseil de la santé publique. Avis du 11 août 2020 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 [Internet]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/Explore.cgi/AvisRapportsDomaine?clefr=909>
3. Hogan CA, Sahoo MK, Pinsky BA. Sample Pooling as a Strategy to Detect Community Transmission of SARS-CoV-2. JAMA. 19 mai 2020;323(19):1967-9.
4. Lohse S. Pooling of samples for testing for SARS-CoV-2 in asymptomatic people. :2.
5. Abdalhamid B, Bilder CR, McCutchen EL, Hinrichs SH, Koepsell SA, Iwen PC. Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS CoV-2 Testing Resources. Am J Clin Pathol. 05 2020;153(6):715-8.
6. Yelin I, Aharony N, Tamar ES, Argoetti A, Messer E, Berenbaum D, et al. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR Test in Multi sample Pools. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 19 2020;71(16):2073-8.
7. 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.
8. 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>
9. Peto L, Rodger G, Carter DP, Osman KL, Yavuz M, Johnson K, et al. Diagnosis of SARS-CoV-2 infection with LamPORE, a high-throughput platform combining loop-mediated isothermal amplification and nanopore sequencing [Internet]. Infectious Diseases (except HIV/AIDS); 2020 sept [cité 15 déc 2020]. Disponible sur: <http://medrxiv.org/lookup/doi/10.1101/2020.09.18.20195370>
10. Narayanan KR, Frost I, Heidarzadeh A, Tseng KK, Banerjee S, John J, et al. Pooling RT-PCR or NGS samples has the potential to cost-effectively generate estimates of COVID-19 prevalence in resource limited environments. medRxiv. 6 avr 2020;2020.04.03.20051995.

¹ Franck Chauvin avait été auditionné par le groupe de travail sur l'opération de dépistage de masse à St Etienne. Dans ce contexte, il n'a pas participé au vote.

11. Zhu J, Rivera K, Baron D. Noisy Pooled PCR for Virus Testing. medRxiv. 11 avr 2020;2020.04.06.20055384.
12. 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.
13. WHO | Simulation of pooled-sample analysis strategies for COVID-19 mass testing [Internet]. WHO. World Health Organization; [cité 2 déc 2020]. Disponible sur: <http://www.who.int/bulletin/volumes/98/9/20-257188-ab/en/>
14. Schneitler S, Jung P, Bub F, Alhussein F, Benthien S, Berger FK, et al. Simple Questionnaires to Improve Pooling Strategies for SARS-CoV-2 Laboratory Testing. Ann Glob Health. 18 2020;86(1):148.
15. Salimnia H, Mitchell R, Gundel A, Cambell A, Gammou F, Chopra T, et al. Pooling samples: a testing option for SARS-CoV-2 during a supply shortage. Diagn Microbiol Infect Dis. janv 2021;99(1):115205.
16. Barat B, Das S, De Giorgi V, Henderson DK, Kopka S, Lau AF, et al. Pooled Saliva Specimens for SARS-CoV-2 Testing. medRxiv [Internet]. 5 oct 2020 [cité 4 déc 2020]; Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7553188/>
17. Denny TN, Andrews L, Bonsignori M, Cavanaugh K, Datto MB, Deckard A, et al. Implementation of a Pooled Surveillance Testing Program for Asymptomatic SARS-CoV-2 Infections on a College Campus - Duke University, Durham, North Carolina, August 2-October 11, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 20 nov 2020;69(46):1743-7.
18. Mutesa L, Ndishimye P, Butera Y, Souopgui J, Uwineza A, Rutayisire R, et al. A pooled testing strategy for identifying SARS-CoV-2 at low prevalence. Nature. 21 oct 2020;1-5.
19. Mina MJ, Parker R, Larremore DB. Rethinking Covid-19 Test Sensitivity — A Strategy for Containment. N Engl J Med. 26 nov 2020;383(22):e120.
20. Skoll D, Miller JC, Saxon LA. COVID-19 testing and infection surveillance: Is a combined digital contact-tracing and mass-testing solution feasible in the United States? Cardiovasc Digit Health J [Internet]. 2 oct 2020 [cité 2 déc 2020]; Disponible sur: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2666693620300360>
21. Public Health England. Pooling of asymptomatic SARS COV-2 COVID-19 samples for (PCR/or other) testing [Internet]. Disponible sur: <https://www.england.nhs.uk/coronavirus/wp-content/uploads/sites/52/2020/09/C0777-sample-pooling-sop-v1.pdf>
22. Delfraissy J-F, Duault LA, Benamouzig D, Bouadma L, Cauchemez S, Chauvin F, et al. DISPONIBILITE DES TESTS RAPIDES : DEFINIR UNE STRATEGIE DE TESTS. 2020;21.
23. Cao S, Gan Y, Wang C, Bachmann M, Wei S, Gong J, et al. Post-lockdown SARS-CoV-2 nucleic acid screening in nearly ten million residents of Wuhan, China. Nat Commun. déc 2020;11(1):5917.
24. Holt E. Slovakia to test all adults for SARS-CoV-2 [Internet]. Vol. 396, Lancet (London, England). Lancet; 2020 [cité 1 déc 2020]. Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33129382/>
25. Site du gouvernement du Royaume-Uni. Getting tested for coronavirus if you live or work in Liverpool [Internet]. Disponible sur: <https://www.gov.uk/guidance/getting-tested-for-coronavirus-if-you-live-or-work-in-liverpool>

26. Haute Autorité de santé. Avis n° 2020.0059/AC/SEAP du 8 octobre 2020 du collège de la Haute Autorité de santé relatif à l'utilisation de la détection antigénique du virus SARS-CoV-2 sur prélèvement nasopharyngé en contexte ambulatoire [Internet]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3212101/fr/avis-n-2020-0059/ac/seap-du-8-octobre-2020-du-college-de-la-haute-autorite-de-sante-relatif-a-l-utilisation-de-la-detection-antigenique-du-virus-sars-cov-2-sur-prelevement-nasopharynge-en-contexte-ambulatoire
27. 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.
28. Haute Autorité de santé. Revue rapide sur les tests RT-LAMP sur prélèvement salivaire (hors système intégré de type EasyCoV) [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 15 déc 2020]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/p_3222440/fr/revue-rapide-sur-les-tests-rt-lamp-sur-prelevement-salivaire-hors-systeme-integre-de-type-easycov
29. Sheridan C. Fast, portable tests come online to curb coronavirus pandemic. *Nat Biotechnol.* 2020;38(5):515-8.
30. Légifrance- Journal officiel. Arrêté du 16 novembre 2020 modifiant l'arrêté du 10 juillet 2020 prescrivant les mesures d'organisation et de fonctionnement du système de santé nécessaires pour faire face à l'épidémie de covid-19 dans le cadre de l'état d'urgence sanitaire - Légifrance [Internet]. [cité 11 déc 2020]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/jorf/id/JORFTEXT000042525251>
31. Duong K, Ou J, Li Z, Lv Z, Dong H, Hu T, et al. Increased sensitivity using real-time dPCR for detection of SARS-CoV-2. *BioTechniques.* 23 nov 2020;
32. Jiang Y, Wang H, Hao S, Chen Y, He J, Liu Y, et al. Digital PCR is a sensitive new technique for SARS-CoV-2 detection in clinical applications. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* déc 2020;511:346-51.
33. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med.* 2020;26(5):672-5.
34. Wong F, Collins JJ. Evidence that coronavirus superspreading is fat-tailed. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 24 2020;117(47):29416-8.
35. Chang S, Pierson E, Koh PW, Gerardin J, Redbird B, Grusky D, et al. Mobility network models of COVID-19 explain inequities and inform reopening. *Nature.* 10 nov 2020;
36. Larremore DB, Wilder B, Lester E, Shehata S, Burke JM, Hay JA, et al. Test sensitivity is secondary to frequency and turnaround time for COVID-19 surveillance. *MedRxiv Prepr Serv Health Sci.* 27 juin 2020;

Annexe 1 : saisine de la Direction générale de la santé

De : SALOMON, Jérôme (DGS)

Envoyé : lundi 30 novembre 2020 16:48

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

Objet : saisine poolage et dépistage de masse

Importance : Haute

Monsieur le Président, cher Franck,

La lutte contre la pandémie de Covid-19 nécessite des adaptations stratégiques régulières au regard de l'acquisition des connaissances, de l'évolution des technologies et des organisations.

Avec une évolution favorable de la situation épidémiologique à la suite des mesures de confinement, il devient possible d'envisager de nouvelles options afin d'assurer un meilleur contrôle de la circulation virale. Parmi celles-ci, le renforcement de la stratégie de tests, par des approches technologiques ou des organisations innovantes, revêt une importance toute particulière.

En date du 10 mai puis du 11 août 2020, le HCSP a publié des avis défavorables sur l'utilisation de la technique de poolage des tests RT-PCR. Cette technique, intéressante en cas de faible prévalence, présente l'avantage de démultiplier les capacités de dépistage tout en réduisant les ressources mobilisées. De nouvelles techniques moléculaires, comme la PCR digitale (ddPCR) ou le NGS (Next Generation Sequencing) permettent de réduire la perte de sensibilité qui peut être associée au poolage des prélèvements analysés. De la même façon, de nouvelles organisations comme les expérimentations de dépistages larges, pourraient bénéficier de ces stratégies de poolage. Toutes ces évolutions, associées à la réduction actuelle de la circulation virale, permettent d'envisager de mener des actions de dépistage de masse visant à mieux identifier les foyers de circulation virale, et briser au plus tôt les chaînes de transmission.

Ainsi, je souhaite que vous puissiez actualiser vos avis antérieurs sur le poolage au regard des données les plus récentes. Vous accorderez une importance particulière à la place et aux modalités techniques opérationnelles à mettre en œuvre notamment dans le cadre d'une action de dépistage de masse par poolage, en précisant en tant que de besoin les adaptations nécessaires selon le niveau de circulation virale.

Je souhaite pouvoir disposer de vos préconisations pour le 4 décembre 2020.

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

Amitiés,

Jérôme

Professeur Jérôme SALOMON

Directeur général de la Santé.

PARIS 07 SP, FRANCE

www.solidarites-sante.gouv.fr



**MINISTÈRE
DES SOLIDARITÉS
ET DE LA SANTÉ**

*Liberté
Égalité
Fraternité*

**Direction générale
de la santé**

Annexe 2 : composition du groupe de travail

Sibylle BERNARD-STOECKLIN, SpF
Daniel CAMUS, HCSP, Cs MIME
Céline CAZORLA, HCSP, Cs MIME
Christian CHIDIAC, HCSP, Cs MIME
Frédérique CLAUDOT, HCSP, Cs3SP
Henriette DE VALK, SpF
Adeline FERI, SpF
Jean-François GEHANNO, HCSP, Cs MIME
Maxime GIGNON, HCSP, Cs3SP
Sophie MATHERON, HCSP, Cs MIME
Philippe MINODIER, HCSP, Cs MIME
Elisabeth NICAND, HCSP, Cs MIME, pilote du GT
Bruno POZZETTO, HCSP, Cs MIME, pilote du GT
Christian RABAUD, HCSP, Cs3SP
Sylvie VAN DER WERF, CNR virus infections respiratoires (dont la grippe)

Personnes auditionnées

Sonia BURREL, Société française de microbiologie
Cédric CARBONNEIL, HAS
Franck CHAUVIN, HCSP
Eric POLLET, ARS Haut de France

SG-HCSP

Marc DURAND
Sylvie FLOREANI

Avis produit par le HCSP

Le 17 décembre 2020

Haut Conseil de la santé publique

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

www.hcsp.fr