

Diasorin, partenaire du laboratoire de Virologie du CHU de St Etienne pour optimiser le diagnostic différentiel des maladies respiratoires

Nous avons rencontré le Dr Sylvie Gonzalo qui partage avec nous son retour d'expérience de l'utilisation de la PCR multiplexe respiratoire, NxTag RPP, de Diasorin



Dr Sylvie Gonzalo et son équipe devant l'instrument MagPix, lecteur du réactif NxTag RPP de Diasorin

Spectra Diagnostic : Pouvez-vous nous présenter le laboratoire et votre rôle au sein de celui-ci ?

Dr Sylvie Gonzalo : Le laboratoire de Virologie du CHU de St Etienne s'inscrit dans le laboratoire des Agents Infectieux, regroupant également Bactériologie, Parasitologie et Hygiène. Il effectue 220 000 tests diagnostiques par an dont près de 50% de tests de biologie moléculaire. Il compte 2 praticiens hospitaliers, 2 praticiens hospitalo-universitaires, une assistante et 14 techniciens. Je suis la responsable administrative et la correspondante qualité de l'UF de Virologie.

Spectra Diagnostic : Pouvez-vous décrire l'organisation de votre pôle de Biologie Moléculaire et son activité ? Et plus particulièrement votre expertise dans les maladies infectieuses respiratoires ?

Dr Sylvie Gonzalo : D'une façon générale, le laboratoire de Virologie du CHU de St Etienne utilise actuellement

des automates de biologie moléculaire en « *random access* » pour tous les diagnostics aigus et réserve le travail en série aux infections chroniques.

Pour le diagnostic des infections respiratoires, notre laboratoire s'est doté dès 2014 d'outils diagnostiques pour des PCR multiplex respiratoires urgentes au coup par coup. Cependant, en routine, jusqu'en 2016, le diagnostic direct des virus respiratoires (hors grippe) s'est fait par IF (Immunofluorescence) puis par PCR microplaque combinant plusieurs panels de PCR duplex. Devant la demande croissante et la nécessité de rendu le plus rapide possible d'un diagnostic différentiel aux virus grippaux, le laboratoire a mis en place dès 2018 les PCR multiplexes respiratoires NxTAG Luminex avec une série quotidienne du lundi au vendredi.

Le laboratoire continue à effectuer une PCR quadriplex de 1^{ère} intention (grippe A et B, VRS, SARS-CoV-2) sur des

automates à flux continu et gère en parallèle ou en 2nde intention la recherche des autres étiologies virales et des bactéries atypiques avec le réactif NxTAG, dont le panel comprend la grippe A et son typage, la grippe B, le VRS, le SARS-CoV-2 mais aussi les virus Para-influenzae 1 à 4, l'Entéro/Rhinovirus, les Adenovirus, les 4 Coronavirus saisonniers, le Bocavirus, le Metapneumovirus (* voir commentaire avant dernière question) et les 3 bactéries atypiques suivantes : *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* et *Legionella*.

Spectra Diagnostic : Pourquoi avoir choisi la solution NxTAG/MagPix ?

Dr Sylvie Gonzalo : Le choix s'est rapidement porté en 2018 sur la solution NxTAG/Luminex pour des raisons de simplicité de protocole, de fiabilité de résultats, de coût faible et de capacité à traiter de très nombreux échantillons en une seule série (jusqu'à 94 hors contrôle négatif imposé par le fabricant et contrôle positif ajouté par notre laboratoire).

Spectra Diagnostic : Que vous apporte ce test dans l'organisation de votre laboratoire ?

Dr Sylvie Gonzalo : Ce test permet un diagnostic quotidien des infections respiratoires dues aux agents pathogènes les plus courants avec globalement une bonne fiabilité. Seuls les résultats des bactéries atypiques peuvent être rendus et dans ce cas, les résultats viraux sont masqués. Outre un diagnostic relativement rapide avec un panel quasi-exhaustif, ce test permet de suivre l'épidémiologie virale et bactérienne, ce qui permet : de prévoir les stocks pour les PCR quadruplex de 1^{ère} intention et de rédiger des bulletins épidémiologiques pour le corps médical, voire détecter les émergences.

Ex : épidémie de *Mycoplasma pneumoniae* début 2024, puis augmentation nationale de détection des *Chlamydia pneumoniae*.

Spectra Diagnostic : Quels sont les points clés du test dans votre laboratoire selon vous ?

Dr Sylvie Gonzalo :

- Une extraction des acides nucléiques des prélèvements respiratoires est réalisée sur un (des) extracteur(s) capacitif(s) et est compatible avec d'autres PCR respiratoires spécialisées (ex : *Pneumocystis jirovecii*, CMV, HSV dans LBA des immunodéprimés)
- Simplicité de lancement de la PCR : il s'agit juste d'ajouter 35 µl d'extrait au mix lyophilisé coâté au fond des puits sur barrettes sécables
- L'hybridation avec les sondes couplées à des billes de couleur permettant la mesure du signal spécifique de chaque pathogène, se déroule en parallèle de la PCR en point final simultanée, ce qui est un gain de temps. Cette étape dure environ 2H30 et coïncide avec la pause déjeuner des techniciens.

La révélation sur l'automate MagPix dure environ 30 minutes. Les résultats de RLU (Relative Luminescent Unit) de

chaque pathogène sont envoyés en connexion sur le SIL qui interprète la réponse qualitative au regard du seuil fabricant, modifié par notre laboratoire pour tenir compte d'une « zone grise » : en effet, les résultats faiblement positifs dans la zone seuil sont à interpréter avec précaution.

- Maintenance simple du MagPix.
- A noter que l'étape critique au plan technique est de garder les barrettes de PCR en isothermie jusqu'à analyse dans le MagPix, sans quoi il peut y avoir un risque d'hybridation non spécifique et donc de fausses réactivités.

Spectra Diagnostic : En quoi ce test est-il adéquat dans le milieu hospitalier ?

Dr Sylvie Gonzalo : Cette technique permet de lancer quotidiennement des séries extrêmement capacitatives, avec des coûts bas, pour une recherche quasi exhaustive des cibles respiratoires.

Spectra Diagnostic : Quel est votre ressenti à propos du test ?

Dr Sylvie Gonzalo : Une grande satisfaction des cliniciens s'est manifestée par une inflation extrêmement importante des demandes en 6 ans (X 3 environ).

Spectra Diagnostic : Etes-vous satisfaite de ce test ?

Dr Sylvie Gonzalo : Au plan biologique, nous sommes satisfaits de ce test mis à part un manque de robustesse dans la reproductibilité de détection du Métapneumovirus (hMPV) qui devrait être améliorée sur la prochaine version de trousse.

Spectra Diagnostic : Comment se passent l'accompagnement et le suivi des équipes Diasorin ?

Dr Sylvie Gonzalo : L'accompagnement de Diasorin est rigoureux et la société est attentive aux besoins de ses clients. ■



• Contact : Diasorin – 11 rue Georges Besse 92160 Antony
E-mail : Elodie.peyric@diasorin.com – Tél. : +33 (0)6 61 30 04 12
www.diasorin.com