

Le diagnostic virologique (DIAPO)

Direct : vise à révéler et identifier, à partir des produits pathologiques

→ le virus lui-même

→ ses constituants (les antigènes , le génome)

Indirecte : déclare l'apparition dans le sérum d'une réponse immunitaire sous forme d'anticorps spécifiques du virus.

Prélèvement :

- Selles (Rotavirus, Poliovirus)

- sécrétions nasopharyngées, sécrétions bronchiques (virus de la grippe, virus respiratoire syncytial)

- Prélèvement cutanés : vésicules, ulcérations (virus de la varicelle et du ZONA)

1-Le diagnostic Direct

A/ Isolement : les virus sont des parasites intracellulaire obligatoires et leur culture ne peut être obtenue que sur des cellules vivantes.

- 3 système peuvent être utilisés :

1) ANIMAL : très peu utilisé. **EX** : coxsackie virus.

2) Les cultures cellulaires : il existe différents types de cellule/

EX : - Cellule HELA (carcinome du col utérin)

chaque virus a un tropisme cellulaire propre.

- HSV(herpes virus) → Hep-2 (carcinome du larynx)

- Virus Grippe → MDCK (cellule du rein de singe)

Résultat :

- Absence de réplication

- Réplication cytolytique : altération morphologiques de la nappe cellulaire ECP (Effet Cyto Pathiques)

3) Inoculation à l'œuf de poule embryonné :

Ex : Virus de la grippe

- Inoculation du prélèvement dans la cavité amniotique des œufs de poule embryonné.
- Après multiplication du virus, on prélève le liquide amniotique et on identifie le virus par différentes techniques

B) Visualisation du virus en microscope électronique

- Détection du virus entier.
- Le ME est appliqué à la **recherche de virus non cultivable**.
- Elle ne détecte les virus qu'en concentration suffisante dans les prélèvements ($10^6/ml$)

C) Mise en évidence des antigènes viraux

1) L'immuno-cyto-diagnostic : consiste en la recherche d'AG viraux dans le cytoplasme des cellules infectées.

*Technique : **Immunofluorescence directe IFD**

Ex : diagnostic des infections respiratoires à partir des prélèvements naso-pharyngés.

- Cette technique est simple et rapide (1 à 2h) elle permet de rechercher simultanément plusieurs virus sur un même prélèvement.

2) Les détections d'antigènes solubles :

***ELISA " Enzyme Linked Immunosorbent Assay "**

Ex : détection des AgHB (signe d'infection) et AgHBe (signe de réplication) du virus de l'hépatite B dans le sérum des malades.

3) Agglutination de particule de latex :

Ex : détection d'adénovirus et de rotavirus dans les selles.

D) Mise en évidence du génome viral :

- Les techniques de biologie moléculaire sont utilisées soit pour la détection (qualitatif) soit pour la quantification (quantitatif) des génomes viraux.

1) Hybridation moléculaire :

Principe : - Appartiennent des bases, des séquences complémentaires d'acide nucléique entre :

* La cible = séquence du génome.

viral choisie pour une résultat spécifique.

* Une sonde nucléique marquée ADN ou ARN .

* Le marquage est une composé radioactif, enzymatique, ou fluorescent.

Hybridation in Situ (l'int de la cellule) :

-directement sur coupes de tissus ou sur cellule sans extraction.

Application : Détection du papillomavirus au niveau des condylomes génitaux " col de l'utérus "

CONDYLOMES → Excroissance bénigne de la peau, d'origine virale, qui est sexuellement transmissible.

2) Hybridation Moléculaire après PCR (polymerase chain reaction)

- Réaction de polymérisation en chaine puis analyse des produits amplifiés.

-Technique sensible et applicable à tous les virus

Ex : PCR en temps réel → Technique permettant de suivre en temps réel cycle par cycle le formation des produits amplifiés grâce à des sondes fluorescentes hybridées.

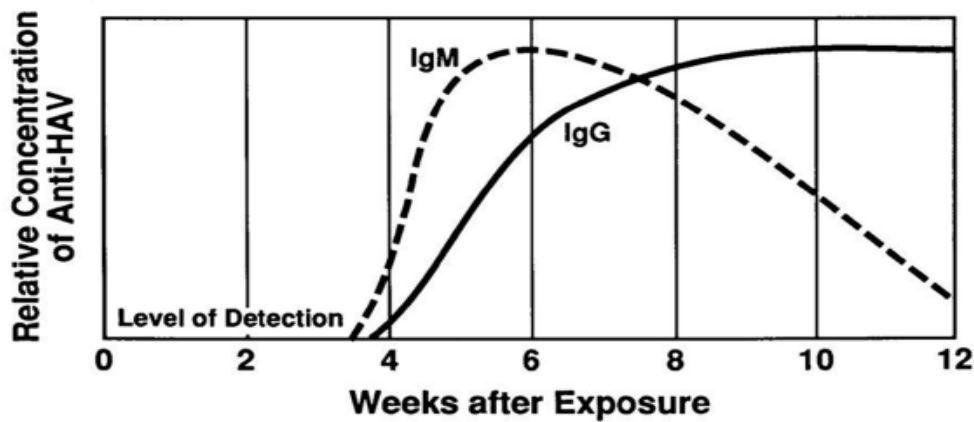
* Amplification et la détection → **en même temps.**

Application :

- Détection qualitative et quantitative " charge virale de : **VIH, VHB , VHC (hépatite C)**

2- Diagnostic indirect « Sérodiagnostic »

-C'est la recherche des anticorps spécifiques d'un virus dans le sérum du sujet.



- Pour le diagnostic d'une infection virale en cours actuelle on recherche :

- * Soit **une séroconversion**
- * Soit **une augmentation significative**
- * Soit **la présence d'IGM spécifique.**

Prélèvement :

-Sérum précoce, et précoce tardif.

- Pour le diagnostic d'une infection en cours il faut faire **2 prélèvement : à 15 jours d'intervalle**

1) ELISA : la plus utilisée

APPLICATION :

- Ac-anti HBs, Ac-Anti-HBe, Ac anti-HBc
- IgM Anti VHA
- Ac-Anti HCv (Hépatite C)

2) Western Blot (Pour la confirmation)

- Les différentes protéines du virus sont présentes séparément sur une membrane qui sert de support de réaction .
- Ce test permet de préciser contre quelles protéines virales sont dirigés les anti-corps présent dans le sérum.

Ex : Dépistage des Ac anti VIH 1 et 2 par ELISA : si **positif** un Western-Blot (immunoblot) doit être réalisé sur le meme prélèvement.

Autres Techniques :

- Réaction d'inhibition de l'hémagglutination.
- Réaction de sero neutralisation.
- Réaction de fixation du complément.
- Immunofluorescence indirecte.
- Réaction d'agglutination passive

Bon Courage

