

## Diagnostic des infections virales

La mise en évidence d'un virus ou de l'un de ces constituants, dans un produit pathologique et/ou l'apparition dans le sérum des anticorps spécifiques, établissent l'origine virale d'une infection.

### 1° Recueil et transport des prélèvements :

Ils doivent être effectués le plus tôt possible, dès l'apparition des premiers symptômes de la maladie. Ils s'effectuent au niveau des lésions, du site de multiplication et de sa voie d'élimination.

- Sécrétion nasales.
  - Aspiration naso-pharyngée.
  - LBA.
  - Vésicule cutanée.
  - Ulcération cutanée.
  - Lésion
  - Selles. —————> Rotavirus, Entérovirus
  - LCR. —————> Entérovirus
  - Biopsie. —————> Papillomavirus
  - Sang. —————> VIH, HCV, CMV, EBV
- } Grippe, VRS
- } Herpès, VZV

Les écouvillonnages, les sérosités et les aspirations sont directement mis en milieu de transport pour assurer la survie.

L'examen et l'ensemencement des prélèvements doivent être effectués le plus vite possible après le prélèvement. On peut conserver à 4°C pendant 24 à 48 heures. Le prélèvement est congelé à -80°C pour être envoyé au laboratoire référent.

### 2° Diagnostic direct :

#### 2.1. Méthode de diagnostic rapide :

Pour certains virus non cultivables, se sont les seules méthodes utilisables.

### **2.1.1. La microscopie électronique :**

C'est un instrument de choix pour visualiser les détails de structure des virus.

Les techniques de coloration utilisées sont des techniques de coloration indirectes. On met le prélèvement en présence d'une solution aqueuse d'une solution de métal lourd. Les ions métalliques vont former des liens ioniques avec les macromolécules du prélèvement. Ces différentes structures du prélèvement donneront, par contraste, une image claire révélant les différentes parties du virus.

Cette technique peut s'appliquer à toute suspension virale aqueuse suffisamment riche en particule virale.

Elle permet la caractérisation des virus en famille ou en groupes mais, ne permet par l'identification des espèces. Pour l'identification des espèces, on utilise des immuns sérums spécifiques.

### **2.1.2. Recherche d'antigènes viraux par immunofluorescence :**

Elle est effectuée sur des prélèvements chargés en cellules épithéliales. On étale le prélèvement sur la lame. On effectue un lavage pour éliminer le mucus. On met un antisérum conjugué par un fluorochrome. On incube puis, on effectue des lavages. On lit la lame.

Attention, sur une même lame, on peut rechercher plusieurs virus.

Elle est rapide, la sensibilité et la spécificité est bonne. On ne peut faire qu'un patient à la fois.

### **2.1.3. Recherche d'antigènes viraux par immunoenzymatique :**

Elles permettant de mettre en évidence des antigènes viraux solubles. Soit des antigènes viraux sur des frottis, soit des coupes histologiques par des techniques peroxydases.

### **2.1.4. Recherche des antigènes viraux par agglutination :**

On dispose de particules de latex sensibilisées par des anticorps. C'est une technique d'agglutination sur lame.

### **2.1.5. Technique de biologie moléculaire :**

Amplification du génome virale par PCR et identification des produits d'amplification. Cette technique est très utilisée pour les EBV, les hépatites, les papillomavirus et le VIH. Elles permettent de détecter les charges virales.

## **2.2. Isolement et identification des virus :**

En vue d'un isolement, un certains nombres de prélèvements contaminés devront être traités avant d'être inoculés aux cellules.

### **2.2.1. Le traitement des prélèvements :**

Les liquides biologiques seront centrifugés et seront traités par des antibiotiques et des antifongiques.

### **2.2.2. Isolement :**

Les virus sont des particules qui ne peuvent se développer qu'au sein de cellules hôtes en raison de leur parasitisme intracellulaire obligatoire. Il y a aucune culture sur milieu inerte.

Les procédés de culture sont variés et on utilise les anciennes procédures sont utilisées dans des cas particuliers. D'autres procédés sont plus récents comme la culture cellulaire.

L'isolement des virus, à partir des prélèvements, a été le seul moyen de diagnostiquer des infections virales.

La culture reste un procédé de choix :

- Pour faire la preuve du caractère infectieux du virus présent dans le prélèvement.
- Pour étudier la résistance phénotypique des virus aux antiviraux.

### **2.2.3. Identification :**

A partir des cultures de virus dans les cellules permicives, préalablement inoculé, il pourra être réalisé l'identification du virus par différents procédés selon le virus à identifier.

#### **• Recherche d'un effet cytopathogène :**

Les flacons ou plaques inoculés sont examinés chaque jour au microscope inversé pour observer d'éventuelles modifications du tapis cellulaire traduisant un effet cytopathogène.

On peut observer :

- Une ballonnisation.
- Une réfringence.
- Une lyse du tapis cellulaire.
- Une disparition des membranes.

Ces modifications morphologiques peuvent être observées directement au microscope sans coloration préalables.

Des colorations peuvent être effectuées sur les cultures cellulaires inoculées afin de révéler des inclusions qui peuvent se développer à l'intérieur des cellules et qui sont caractéristiques d'un groupe viral.

Elles peuvent être :

- Eosinophiles.
- Basophiles.
- Intranucléaires.
- Intracytoplasmiques.

L'examen de culture permet de déterminer l'appartenance à une famille ou à un groupe virale mais aussi d'identifier un germe.

Le typage précis sera possible qu'en utilisant des antisérums monospécifiques et en réalisant une séro-neutralisation.

Pour la majorité des virus, l'obtention de l'effet cytopathogène est long. Le délai de réponse peut être raccourci grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux permettant de détecter des antigènes viraux précoces qui apparaissent au sein des cellules bien avant l'obtention de l'effet cytopathogène classique. Ces antigènes viraux précoces sont détectés dans les cellules infectés par des techniques immunologiques.

- **L'hémagglutination :**

Plusieurs virus ont des propriétés hémagglutinantes et peuvent être mis en évidence par une réaction d'hémagglutination. Cette réaction est effectuée sur le surnageant des cellules infectées que l'on met en présence d'hématies. La nature des hématies est fonction du virus que l'on recherche ainsi que les conditions opératoires.

En parallèle, on effectue un témoin, c'est-à-dire avec un surnageant non infecté.

L'agglutination est visible par la formation d'un tapis uniforme au fond du puits de la plaque.

Pour déterminer un germe virale ou un sérotype, on peut utiliser des antisérums spécifiques qui vont réagir avec les hémagglutinines et ainsi empêcher l'agglutination des hématies.

- **L'hémabsorption :**

Certains virus peuvent provoquer l'attachement des hématies aux cellules qu'ils ont infectées.

### **3° Diagnostic indirect :**

Différentes techniques sont utilisées :

- L'immunoenzymatique.
- L'immunofluorescence indirecte.
- L'inhibition de l'hémagglutination.