

TD 5 : Méthodes de diagnostic des infections virales

Les infections virales représentent un défi médical majeur en raison de leur diversité, de leur capacité à évoluer rapidement et de la nécessité d'une détection précoce pour une prise en charge efficace. Les méthodes de diagnostic des infections virales ont considérablement évolué au fil des années, offrant des outils sophistiqués et rapides pour identifier et caractériser les agents viraux responsables des maladies.

I. Méthodes de diagnostic

Le diagnostic d'une infection virale peut être réalisé de deux manières : par une approche directe visant à identifier la présence directe du virus, ou bien par une approche indirecte axée sur la détection des réponses immunitaires de l'organisme au virus.

I.1. Approche directe

Elle cherche directement la présence du virus par :

- Visualisation par microscopie électronique.
- Culture du virus et observation des effets sur les cellules cultivées.
- Détection d'éléments constitutifs du virus, tels que des antigènes exprimés dans les particules virales ou à la surface de cellules infectées, ou d'une séquence spécifique d'acide nucléique.

Les techniques utilisées pour le diagnostic direct sont :

a. Microscopie électronique

Pour ce faire, une préparation virale est déposée sur une grille de cuivre ou de zinc et est colorée avec des agents tels que l'acétate d'uranyle pour obtenir une coloration négative, les virus se distingueront en contraste négatif, apparaissant comme des structures claires sur un fond foncé.

Cette technique permet de mettre en évidence la taille et la structure du virus mais son utilisation reste limitée vu son coût élevé et la complexité de sa technique.

b. La culture cellulaire

Des signes d'infection virale sont observés par l'examen microscopique de cellules infectées en culture. Ces effets cytopathiques peuvent se manifester sous forme de gonflement, de rétrécissement cellulaire, d'apparition de syncytium ou de lyse. La culture cellulaire peut également se faire *in vivo* par l'inoculation d'œufs embryonnés ou d'animaux de laboratoire. Pour les virus végétaux, des cultures de cellules végétales (protoplastes) ont également été utilisées pour la multiplication et l'étude des virus.

c. Détection d'antigènes viraux

Cette approche est rapide et simple, elle est utilisée généralement lorsque le virus n'est pas cultivable, par exemple, pour la détection de l'antigène de surface du virus de l'hépatite B dans le sang. Les techniques utilisées pour la **détection directe d'antigènes** sont similaires à celles décrites pour la détection d'anticorps (agglutination, précipitation, ELISA, immunofluorescence). Il est également possible de détecter **les protéines virales** par la technique Western blot.

d. Détection des acides nucléiques viraux

La technique PCR : réaction de polymérisation en chaîne permet de produire des milliers de copies d'une séquence nucléotidique spécifique en quelques minutes, ceci va faciliter la détection du génome viral recherché même s'il est présent à faible quantité. Dans le cas des virus à ARN, une transcription inverse est d'abord réalisée à l'aide de la transcriptase inverse. La technique est maintenant largement utilisée en virologie surtout durant la pandémie du COVID-19.

I.1. Approche Indirecte

Cette approche cherche les signes de la réaction de l'organisme à la présence du virus par les tests sérologiques afin de détecter la présence d'anticorps.

Recherche des anticorps : tests sérologiques

La détection de la production d'anticorps spécifiques est effectuée sur du sérum à l'aide de techniques relativement simples. Ce sont particulièrement les IgG (monomères) et les IgM (pentamères) qui font l'objet de recherches lors de du diagnostic d'une infection virale.

La séropositivité en général indique la présence du virus mais ne révèle pas si c'est une infection récente ou bien ancienne comme par exemple la détection d'anticorps du VIH qui indique juste l'état porteur sans dater l'infection

La présence d'anticorps de la classe M (IgM) indique une infection aiguë et récente, car celles-ci sont les premiers à apparaître, elles peuvent être détectés présent pendant les premiers mois après un contact.

La présence d'anticorps IgG indique une infection ancienne car l'avidité de ces anticorps augmente au cours des mois succédant à une infection aiguë.

Une augmentation de la concentration d'anticorps entre deux sérums prélevés à un intervalle bien précis indique qu'il y a eu une stimulation du système immunitaire

Les tests sérologiques utilisés pour la détection des anticorps sont principalement les tests d'agglutination, l'ELISA et le Western blot.

Titrage des anticorps

La détermination du titre d'anticorps suite à un test sérologique permet d'estimer la concentration des anticorps et de surveiller l'évolution de l'infection virale.

Il consiste à la détection des anticorps dans une série de dilutions de sérums. Le titre est déterminé par « la dilution la plus élevée qui produit toujours une réaction positive ». Par exemple, si les anticorps sont détectés à une dilution de 1/10 mais plus à 1/12, le titre d'anticorps dans ce sérum est de 10.