

## EXAMENS VIROLOGIQUES EN PRATIQUE MEDICALE

### **I/ Les indications des examens virologiques**

#### **1°) Les infections graves pour le malade**

Toute maladie sévère entre dans ce cadre même si pour certaines une thérapeutique spécifique existe.

#### **2°) Les infections graves pour l'entourage**

Dans une unité d'hématologie infantile la nature zostérienne ou herpétique d'une éruption vésiculeuse atypique doit être élucidée pour mettre en œuvre les mesures visant à éviter que des enfants leucémiques ne contractent une varicelle grave.

En fin de grossesse une présomption d'herpès doit recevoir confirmation au laboratoire puisqu'elle peut entraîner l'indication d'une césarienne.

Il est important de dépister les donneurs de sang porteurs du virus de l'hépatite B, du VIH, du CMV, du VEB, du VHC etc...

### **II/ Les prélèvements virologiques**

#### **1°) Les prélèvements sériques**

Le diagnostic sérologique d'une infection virale n'est pas l'observation d'un titre d'anticorps viraux dans le sérum, aussi élevé soit-il. C'est la mise en évidence d'une élévation du titre entre deux sérums. Le premier sérum est prélevé à la phase aiguë de la maladie, le deuxième 2 à 3 semaines plus tard.

#### **2°) Les prélèvements pour détection du virus**

Précoces, ils porteront chaque fois que cela est possible sur les lésions : affections cutanéomuqueuses. Ce sont le LCR, l'aspiration bronchique, les selles liquides, les urines, le sang, les sécrétions nasopharyngées, les larmes, le liquide de vésicule, les produits de grattage des lésions érosives.

**Conservation** : Le stockage des prélèvements est possible par congélation à -20 °C ou moins pour les virus nus, -70 °C ou moins pour les virus enveloppés. Le sang est recueilli sur anticoagulant (liquémine, calciparine) pour garder en vie les leucocytes.

### **III/ Les renseignements cliniques**

La recherche d'une séroconversion et la détection du virus exigent des renseignements cliniques. Brefs et précis ils devront accompagner les prélèvements.

### **IV/ Les examens au laboratoire**

#### **1°) Les méthodes de diagnostic virologique rapide**

Elles consistent à détecter le virus ou les antigènes viraux directement dans le prélèvement.

### **a) La microscopie électronique :**

Elle permet de distinguer deux virus de famille différente, mais deux virus appartenant à la même famille.

### **b) La technique ELISA**

Plusieurs variantes de l'ELISA s'appliquent à la détection d'antigènes viraux dans les prélèvements.

ELISA signifie Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay.

Cette technique (Assay) se fonde sur la propriété de certains plastiques traités d'adsorber (Sorbent) de façon stable anticorps ou antigènes. Leur présence dans le prélèvement est finalement décelée par une immunoglobuline conjuguée (Linked) à une enzyme, celle-ci est choisie de sorte que son substrat ajouté en fin de réaction se colore avec une intensité mesurable en densité optique. Cette réaction quantifie la réaction Antigène-Anticorps, l'antigène étant le virus recherché.

### **c) Les techniques d'immunofluorescence**

L'immunofluorescence directe : les anticorps antiviraux sont eux-mêmes conjugués à un fluorochrome.

L'immunofluorescence indirecte : on fait agir dans un 2<sup>ème</sup> temps un conjugué dirigé contre les anticorps antiviraux.

### **d) La PCR (Polymerase Chain Reaction)**

La PCR permet la détection de cibles ADN après une étape d'amplification réalisée grâce à une ADN polymérase thermorésistante (Taq-polymérase).

La détection des ARN est possible après transcription préalable de l'ARN en ADN complémentaire par une transcriptase reverse.

## **2°) L'isolement**

Il consiste à obtenir le virus par multiplication au laboratoire. L'isolement passe par l'inoculation du prélèvement à des cellules :

- cellules de rein de singe en primo-culture (cellules PAGMK) ;
- cellules épithélioïdes humaines en lignée continue (HeLa, KB, Hep-2) ;
- cellules fibroblastiques humaines : MRC5 ;
- œuf de poule embryonné.

Les modifications recherchées sont l'effet cytopathique (ECP), l'hémagglutination ou l'hémasorption, l'interférence.

L'ECP se définit par un changement de l'aspect des cellules en microscopie optique. La coloration de la culture à l'hémalum-éosine ou au May Grunwald Giemsa (MGG) peut mettre en évidence des inclusions (accumulation du matériel viral) dont le siège ou l'aspect évoquent dans certains cas une famille virale particulière, ce qui facilite le typage.

L'**hémagglutination** se recherche dans le liquide des cultures infectées. Certains virus ont la propriété de se fixer sur des hématies. Un même virus reliant deux hématies, va les agglutiner. Cette hémagglutination met en jeu des structures de la surface virale (spicules = hémagglutinine) et sur les hématies des récepteurs de nature variable selon les virus. On laisse sédimenter le mélange virus-hématies dans un tube ou dans le puits d'une microplaque.

Si le virus hémagglutine, les hématies reliées entre elles forment un réseau et sédimenter en une nappe homogène tapissant tout le fond du tube.

Si le virus n'hémagglutine pas les hématies sédimenter en un culot dense qui glisse quand on incline le tube puisque les hématies sont libres.

L'**hémadsorption** est une propriété de la surface des cellules infectées par un virus à la fois hémagglutinant et enveloppé. La membrane des cellules infectées porte les spicules hémagglutinants de cette catégorie de virus et acquiert la propriété de fixer les hématies

On recherche l'hémadsorption en laissant sédimenter des hématies au fond du tube de culture infecté ; elles se fixent sur la nappe cellulaire et s'y maintient après lavage.

L'**interférence** se définit par l'impossibilité de surinfecter la culture par un second virus d'épreuve ; elle a été surtout utilisée pour la détection du virus de la rubéole.