

Le diagnostic virologique

Les méthodes de diagnostic virologique :

- Evoquer le développement de l'infection.
- Confirmer le type de virus grâce à des méthodes spécifiques : les cibles de la détection des virus.
- Toutes les infections virales ne nécessitent pas l'intervention du laboratoire lorsque l'infection n'est pas contagieuse et surtout n'est pas mortelle. ex: hépatite A - rubéole. par contre elle est obligatoire pour les infections graves. ex: hépatite B-C , HIV , le fièvre hémorragique.

Si le contexte clinique ou la gravité des symptômes est justifié, le diagnostic virologique fait appel soit aux méthodes indirectes (la sérologie) soit aux méthodes directes (chercher le virus lui même) par prélèvement.

Parmi les méthodes directes:

- le diagnostic moléculaire : rechercher le virus lui même après culture.
- L'examen antigénique : pour rechercher les structures des virus, ex : protéines.
- La biologie moléculaire : pour rechercher le génome.

Le diagnostic indirect: (la sérologie : AC-AG).

Pour le diagnostic d'une infection au cours il est très important d'analyser 2 prélèvements constitutifs à 15 jours d'intervalle, pour observer une modification significative du taux d'AC (voir s'il y a une réaction immunitaire).

- si on trouve des IgM : signifie le plus soit la présence d'une infection récente, les IgG : une infection ancienne (immunisation).
- Dans les maladies très graves, on doit faire une sérologie de confirmation Western blot , immuno blot ...
- On a plusieurs prélèvements : sang, sérum , liquide amniotique, lavage broncho-alvéolaire (LBA). (utilisés pour la sérologie).

Les techniques utilisées :

Technique de choix : **ELISA**

Ag-Ac visualisé grâce au complexe immun après coloration spécifique et en utilisant une enzyme « peroxydase »

Ou **immuno fluorescence** .

Il y'a des tests rapides utilisent des **réactions « témoin »** .

Les indications : la mise en évidence des AC antivirus.

Les avantages : automatisation , délai rapide , bonne sensibilité et excellente spécificité.

Les limites :

- Chez les immuno déprimés (pas des AC) => cherche directement le virus.
- des faux négatifs : il faut faire des tests de confirmation.
- des faux positifs : il y'a des communautés antigéniques.

Le diagnostic direct :

La qualité du prélèvement conditionne le résultat.

Selles-urines => dans un tube stérile et l'utilisation d'un matériel spécifique.

Sang pour les lymphocytes. ..

Les techniques utilisées :

Le diagnostic direct rapide : pour les selles : Ag inconnu et Ac connu.

- Les indications du diagnostic direct permet une prise en charge spécifique, rapide surtout dans les infections virales, ex: rotavirus ID dans la transplantation des organes.

Le diagnostic direct par culture : les virus sont des parasites obligatoires intracellulaires, on va les culturer sur des cellules eucaryotes, on doit les entretenir sous forme de lignées continues ou semi continues

Les étapes :

- À partir des prélèvements renfermant le virus , l'ensemencement des lignées cellulaires après 2-3 jours car le virus va se multiplier.

- Examen au microscope (examen direct) pour la mise en évidence d'un effet cytopathique (ECP): ECP (+) => il y a une infection virale.

- Colonisation : à la recherche d'inclusion virale et d'altération cytoplasmique et nucléaire.

- Immunomarquage spécifique : mettre des AC marqués à la fluoresceine => fluorescence (fixation AC*-AG).

Les avantages :

- Isoler le virus pour faire des réactifs.

- Trouver le caractère infectieux.

- Caractériser le phénotype (résistant /sensible) à certains antiviraux utilisés

- Ont de très bonne sensibilité mieux que la sérologie.

- Indispensable pour la mettre en évidence certains souches de vaccins.

Les limites :

-le résultat n'est pas rapide.

Le diagnostic moléculaire :

3 méthodes principales :

-Hybridation moléculaire (c'est la détection directe ADN ARN sur différents tubes).

-PCR : amplification génique (++) : à partir d'un prélèvement ADN/ARN, ils sont extraits par différentes méthodes, et cette extraction est obtenue par absorption des acides nucléiques connus => amplification => visualisation => confirmation.

-Le séquençage nucléotidique : c'est un PCR mais on ajoute certains protéines di-désoxynucléotides.

Les indications :

-technique qualitative pour étudier la qualité des virus qui ne sont pas cultivables. Ex : hépatite C.

-technique quantitative pour les patients traités (sous traitement antiviral).

- efficacité thérapeutique.

-Caractériser le génotype.

-a une sensibilité importante et remarquable .

Les limites :

-Risque de contamination.

-Coûteuse.