

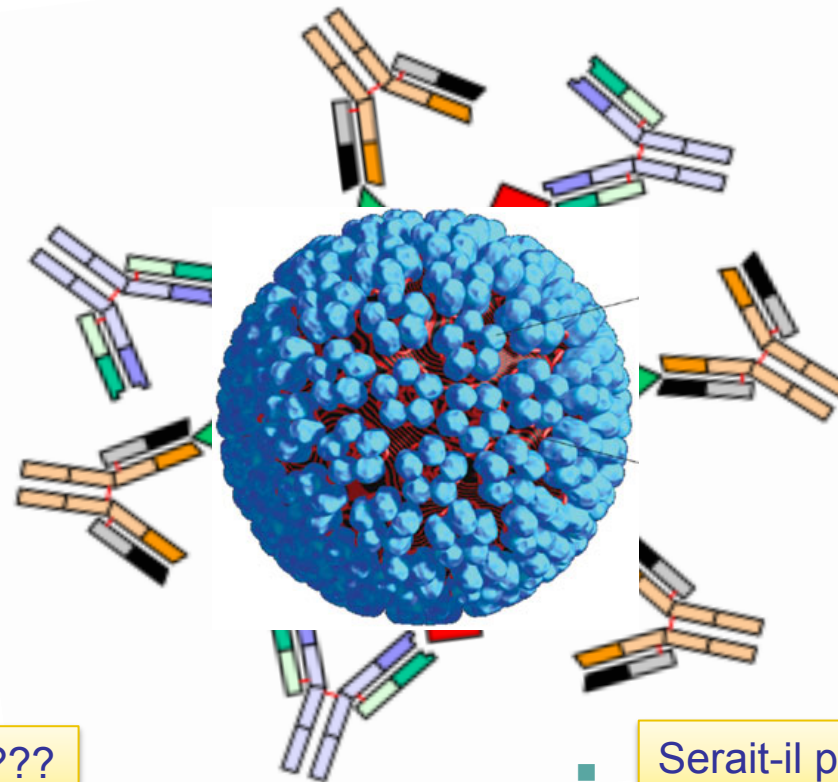


Examens virologiques en pratique médicale

Moyens techniques pour faire un diagnostic positif:

- Diagnostic direct
- Diagnostic indirect

Examens virologiques en pratique médicale



- Est-il encore là ???
recherche du virus ou d'un
de ses constituants
(protéines virales ou
génomme viral)

- Serait-il passé par là ???
recherche des anticorps

Diagnostic Indirect =
Détection d' Ac par différentes techniques

- Technique ELISA
- Western-blot

« Dater l' infection »
Infection récente

« Déjà vu le virus »
Statut sérologique

Diagnostic Direct =
Détection du virus ou de ses composants

Isoler le virus

Détecter les Ag

Détecter le génome

Culture cellulaire

Immunofluorescence

PCR
RT-PCR

Diagnostic indirect ou sérologie: **Prélèvement**



- Diagnostic indirect
 - Détecter les Ac
 - Ac spécifiques dirigés contre le virus

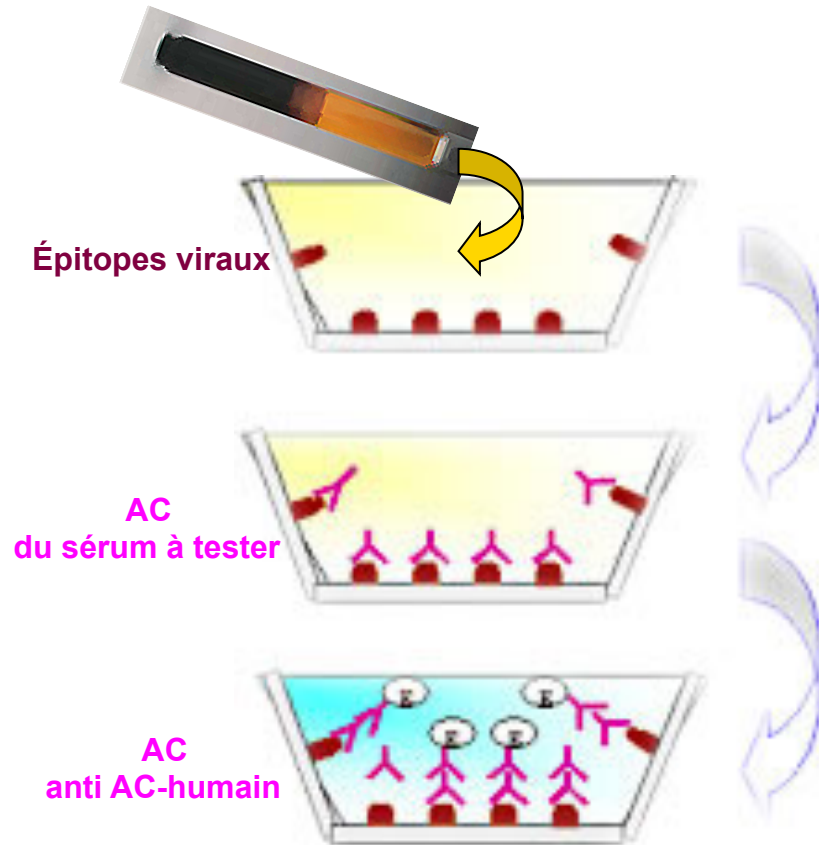
- Sérum
 - Prélèvement de sang en tube sec gélosé
 - Acheminé au laboratoire à température ambiante.
 - Centrifugé au laboratoire
 - Le sérum est utilisé pour réaliser les sérologies prescrites.

- Autres liquides biologiques :
 - liquide céphalo-rachidien (LCR),
 - liquide amniotique,
 - liquide pleural,
 - liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA) ...

Simple
Facile



Diagnostic indirect ou sérologie: recherche AC



■ Techniques:

- ELISA (tests unitaires ou en plaques) = *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
 - Puits colorés = Positifs
 - AC sont-ils des IgG ou IgM ?
 - Si AC anti IgM => puits colorés si présence d'IgM

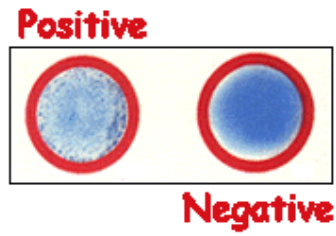
Diagnostic indirect ou sérologie: recherche AC



■ ELISA



■ Agglutination (latex rubéole)



■ Test rapide



■ Western blot





En conclusion: **rechercher des AC**



- Pour le diagnostic d'une infection en cours:
 - 2 prélèvements à 15 jours d'intervalle
 - Titre ou taux AC augmente
 - IgM signe une infection récente

Diagnostic Indirect =
Détection d' Ac par différentes techniques

- Technique ELISA
- Western-blot

« Dater l' infection »
Infection récente

« Déjà vu le virus »
Statut sérologique

Diagnostic Direct =
Détection du virus ou de ses composants

Isoler le virus

Détecter les Ag

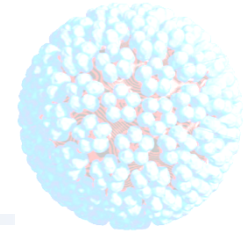
Détecter le génome

Culture cellulaire

Immunofluorescence

PCR
RT-PCR

Diagnostic direct : détection du virus ou de ses composants



- Prélèvements:
 - Récipient sec stérile
(Aspiration naso-pharyngée, selles, urines, LCR...)
 - Écouvillon stérile immergé dans un milieu de transport
(gorge, vésicules, conjonctives)
 - Tube de sang ou de plasma
héparinate de lithium (CMV) ou EDTA (EBV, HIV)

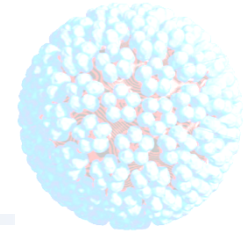
- La qualité du prélèvement conditionne le résultat
 - **Il faut des cellules ++++**
 - gratter sur les berges afin de récupérer des cellules vivantes et non de la nécrose

- **Acheminer au laboratoire dans les 4 heures**

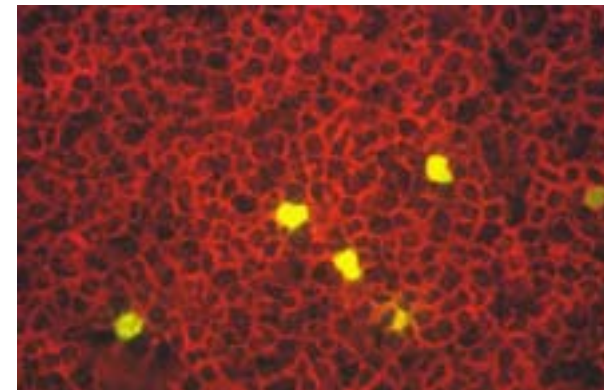
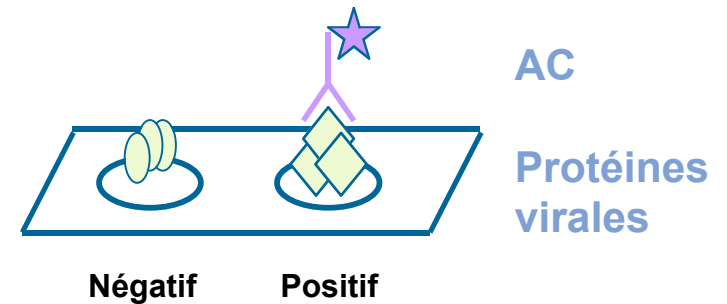
Divers
difficile
fragile....

- Techniques:
 - Diagnostic direct « rapide »
 - Diagnostic direct par culture
 - Diagnostic direct par biologie moléculaire

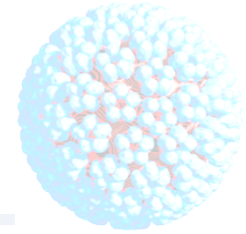
Diagnostic direct « rapide » détection du virus ou de ses composants



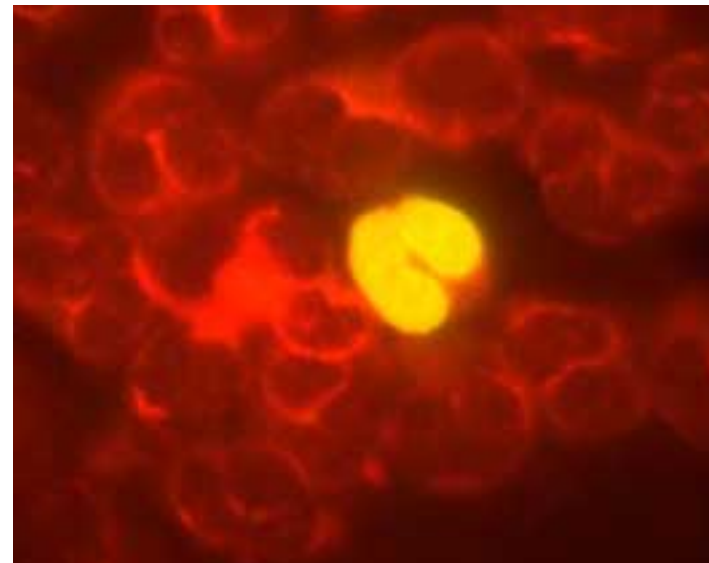
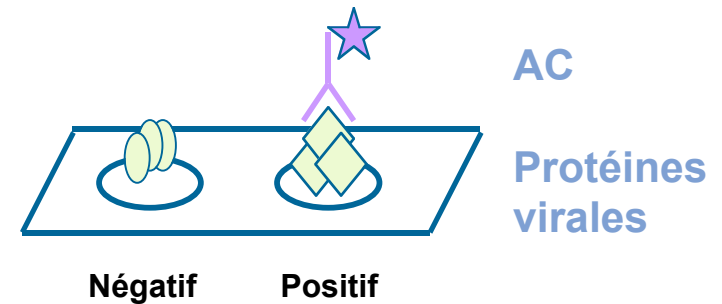
- Résultats en quelques heures
- Technique:
 - Cellules déposés sur une lame de verre
 - Ag sont détectés par immunomarquage
- Indications
 - Prise en charge rapide
 - Infections respiratoires (grippe, VRS)
 - Chez les patients immunodéprimés (CMV)

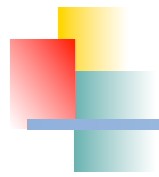


Diagnostic direct « rapide » détection du virus ou de ses composants

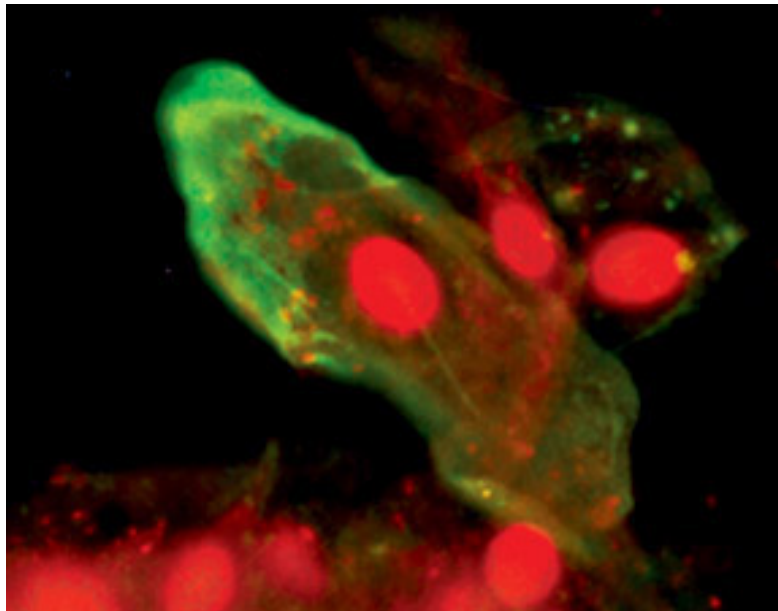


- Résultats en quelques heures
- Technique:
 - Cellules déposés sur une lame de verre
 - Ag sont détectés par immunomarquage
- Indications
 - Prise en charge rapide
 - Infections respiratoires (grippe, VRS)
 - Chez les patients immunodéprimés (CMV)
 - Femme enceinte (HSV)





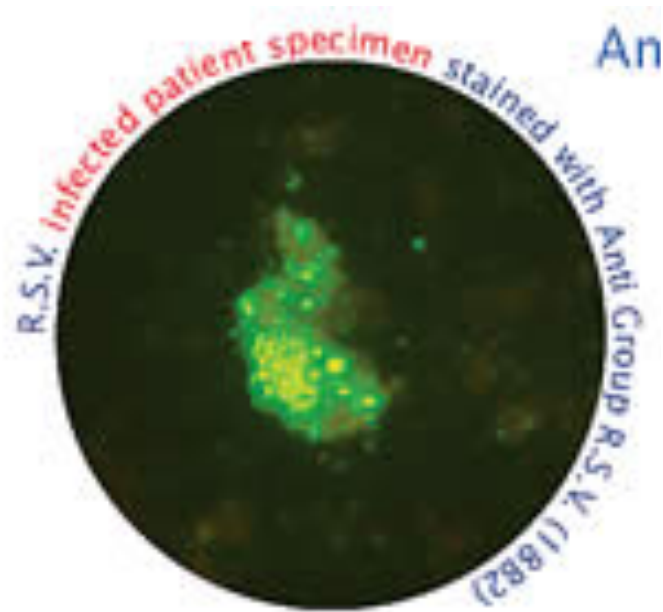
Diagnostic direct : Immunofluorescence



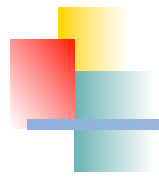
IF grippe A



Diagnostic direct : Immunofluorescence



IF VRS



Diagnostic direct : Immunofluorescence

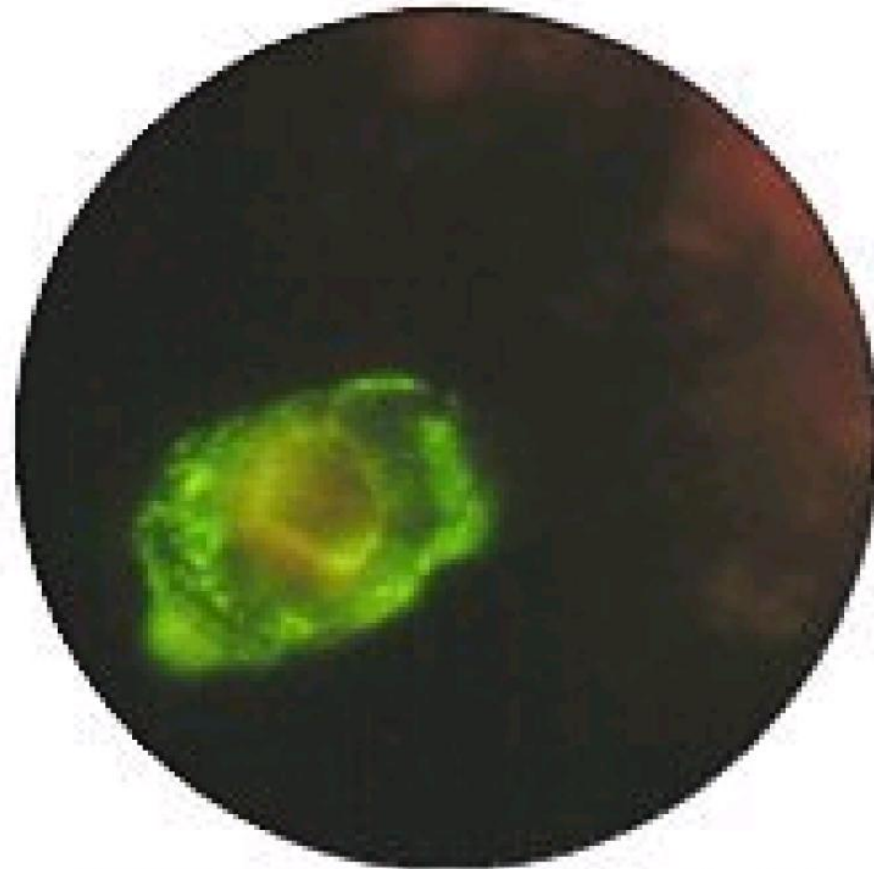


Fig. 3, HSV-infected epithelial cell from skin lesion (DFA)

Diagnostic Indirect =
Détection d' Ac par différentes techniques

- Technique ELISA
- Western-blot

« Dater l' infection »
Infection récente

« Déjà vu le virus »
Statut sérologique

Diagnostic Direct =
Détection du virus ou de ses composants

Isoler le virus

Détecter les Ag

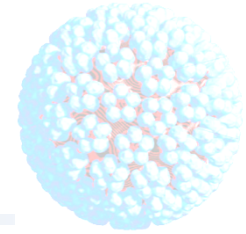
Détecter le génome

Culture cellulaire

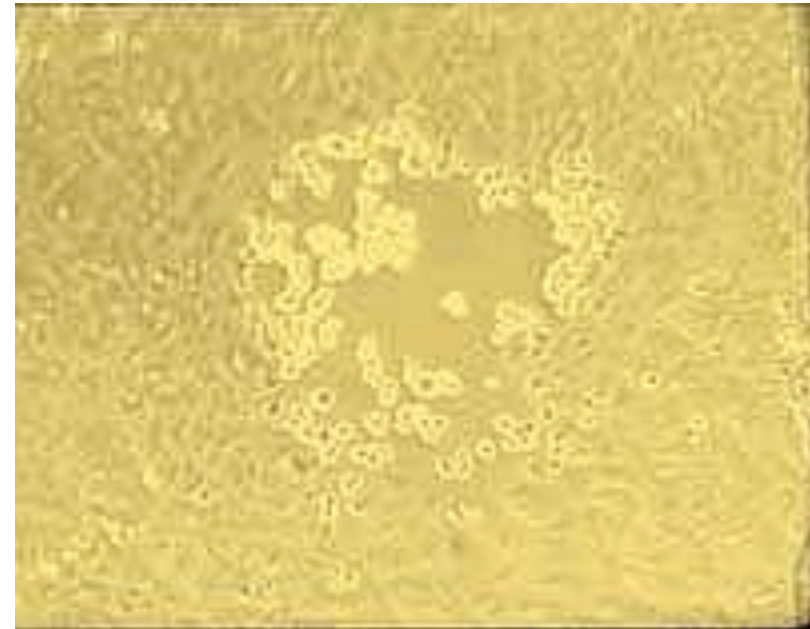
Immunofluorescence

PCR
RT-PCR

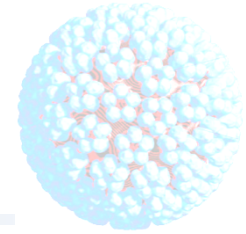
Diagnostic direct par culture: détection du virus ou de ses composants



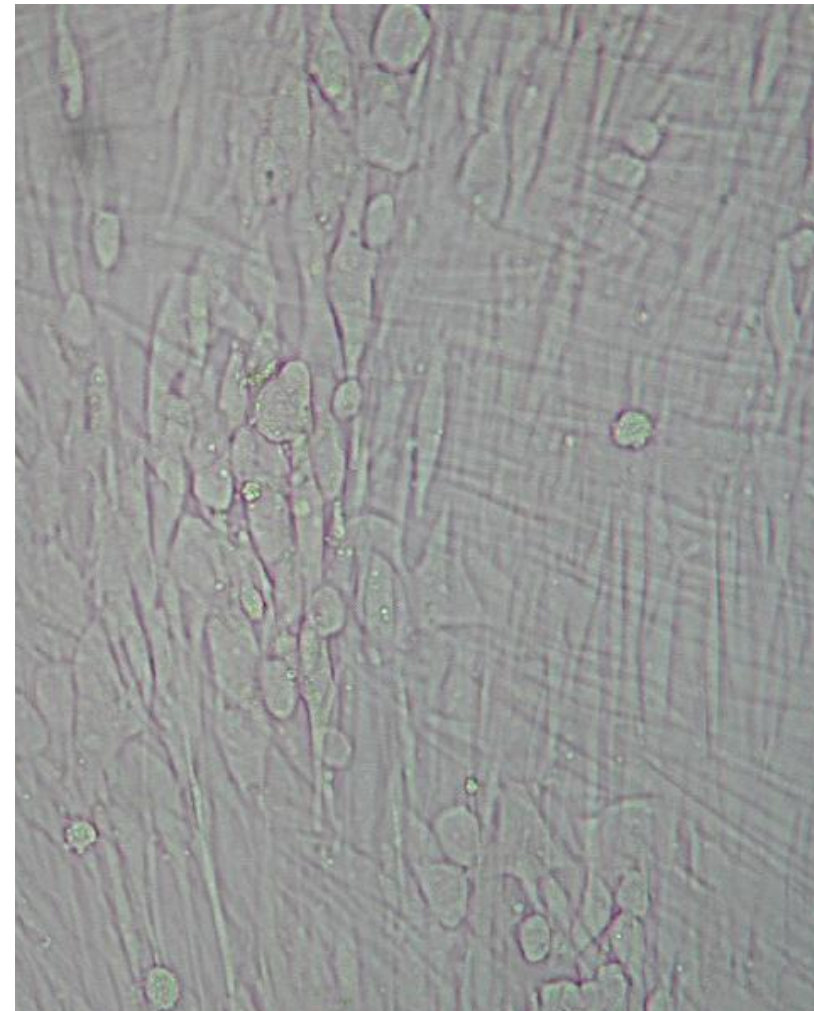
- Les différentes étapes du diagnostic par culture virale:
 - Inoculation du prélèvement sur différents supports cellulaires
 - Recherche 3 fois/sem d' un effet cytopathique
 - Si ECP: identification
 - Coloration
 - Immunomarquage spécifique
 - Neutralisation



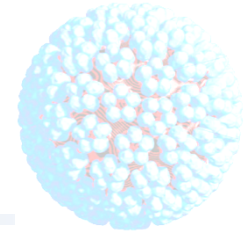
Diagnostic direct par culture: détection du virus ou de ses composants



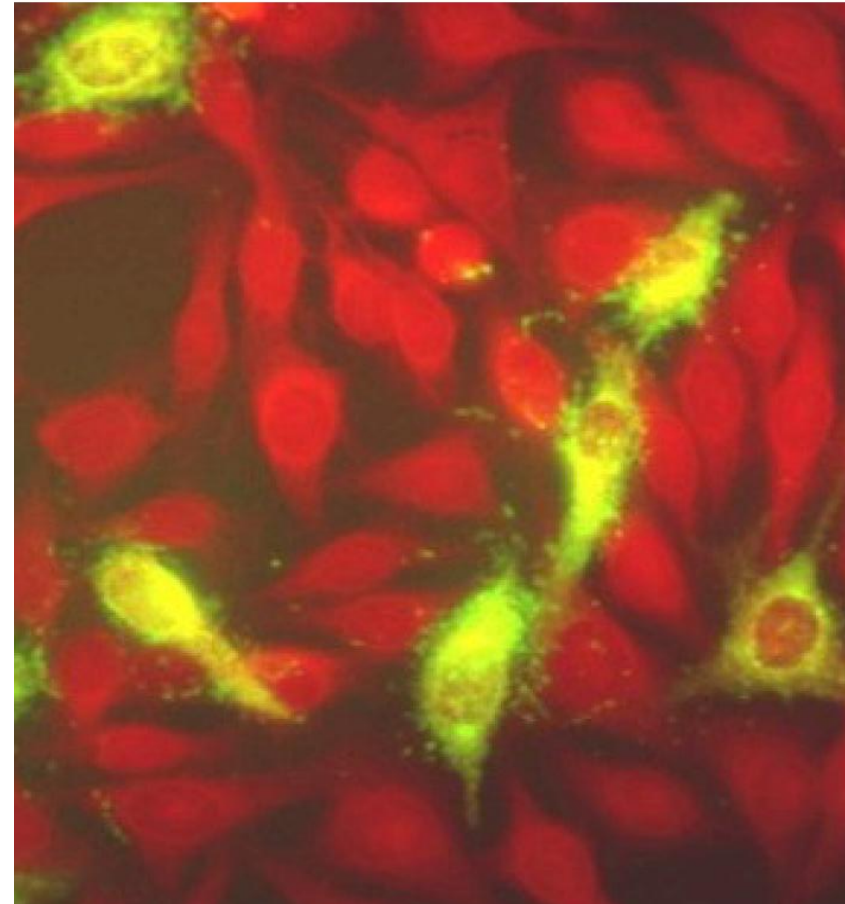
- Les différentes étapes du diagnostic par culture virale:
 - Inoculation du prélèvement sur différents supports cellulaires
 - Recherche 3 fois/sem d' un effet cytopathique
 - Si ECP: identification
 - Coloration
 - Immunomarquage spécifique
 - Neutralisation



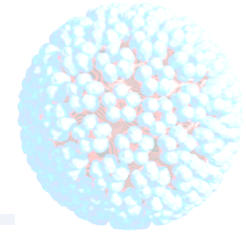
Diagnostic direct par culture: détection du virus ou de ses composants



- Les différentes étapes du diagnostic par culture virale:
 - Inoculation du prélèvement sur différents supports cellulaires
 - Recherche 3 fois/sem d' un effet cytopathique
 - Si ECP: identification
 - Coloration
 - Immunomarquage spécifique
 - Neutralisation



Diagnostic direct par culture: détection du virus ou de ses composants



- **Avantage:**
 - Sensibilité
 - Prouve le caractère infectieux du virus
 - Permet d'isoler la souche

- **Contraintes:**
 - Hotte à flux laminaire,
 - Matériel jetable et stérile



Diagnostic Indirect =
Détection d' Ac par différentes techniques

- Technique ELISA
- Western-blot

« Dater l' infection »
Infection récente

« Déjà vu le virus »
Statut sérologique

Diagnostic Direct =
Détection du virus ou de ses composants

Isoler le virus

Détecter les Ag

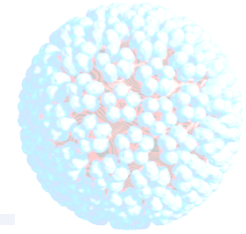
Détecter le génome

Culture cellulaire

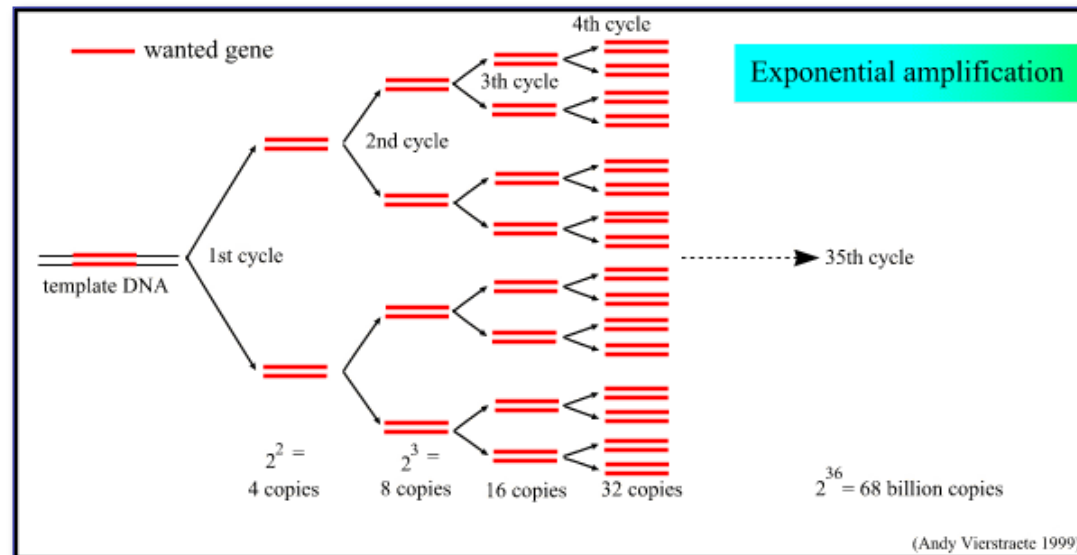
Immunofluorescence

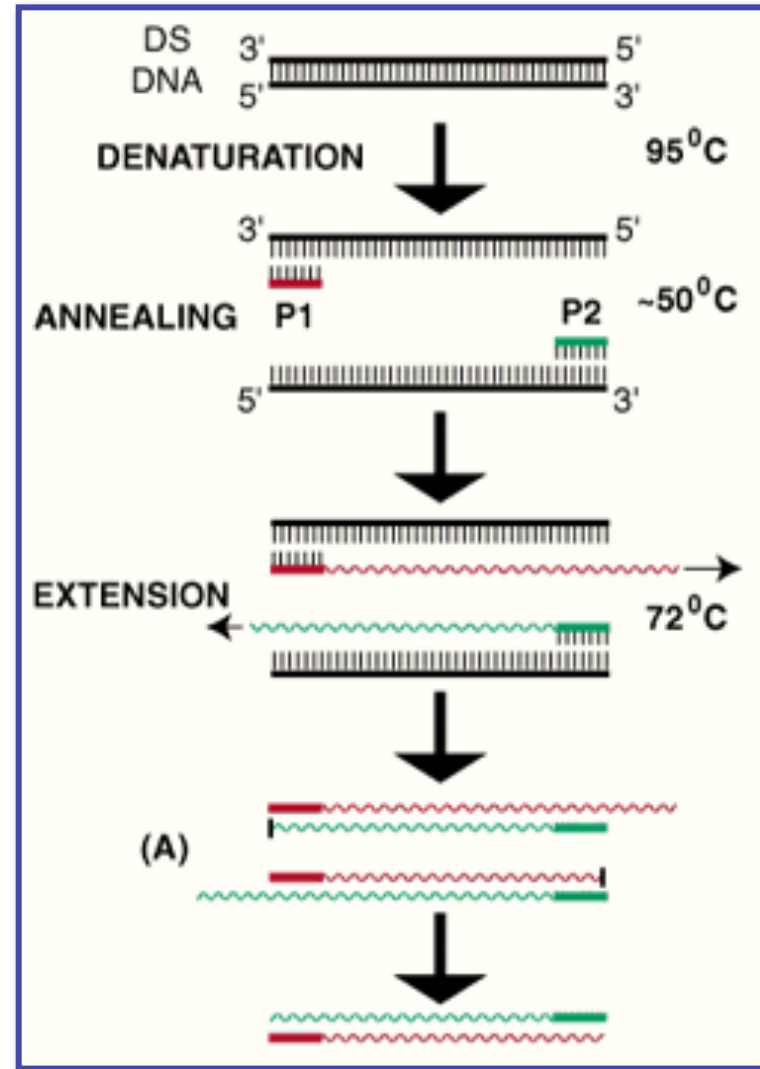
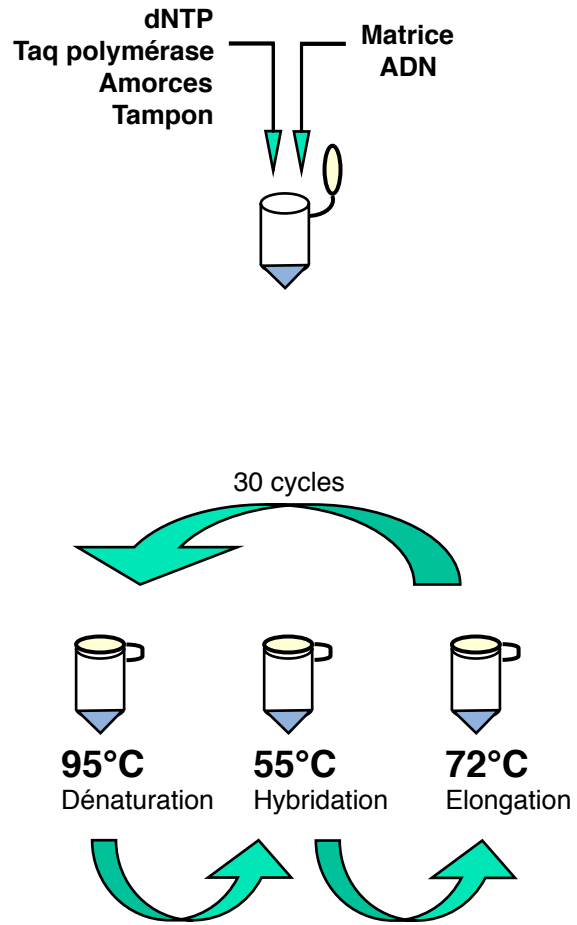
PCR
RT-PCR

Diagnostic direct par biologie moléculaire: détection de ses composants

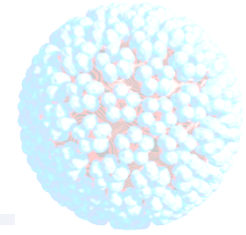


- Par amplification génique:
 - Par PCR ou RT-PCR...suivant le génome
 - Permettant le recopiage d'une portion limitée du génome viral
=> Détection possible:
PCR qualitative (pos ou nég)
 - Quantitative (HIC, HBV, HCV, EBV) = charge virale
 - Suivi parfois du séquençage nucléotidique = séquence exacte



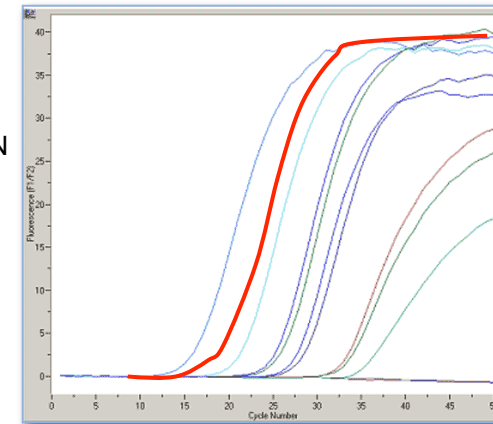


Diagnostic direct par biologie moléculaire



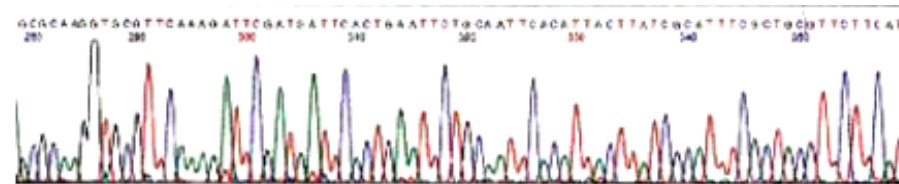
- **Avantage:**
 - Sensibilité
 - **Technique quantitative**
= **Charge virale**
 - Séquence exacte ...
adaptation thérapeutique

Quantité d' ADN Synthétisé



Au cours du temps

- **Contraintes:**
 - **Risque de contamination**



Séquence exacte de l' ADN synthétisé

Diagnostic Indirect =
Détection d' Ac par différentes techniques

- Technique ELISA
- Western-blot

« Dater l' infection »
Infection récente

« Déjà vu le virus »
Statut sérologique

Diagnostic Direct =
Détection du virus ou de ses composants

Isoler le virus

Détecter les Ag

Détecter le génome

Culture cellulaire

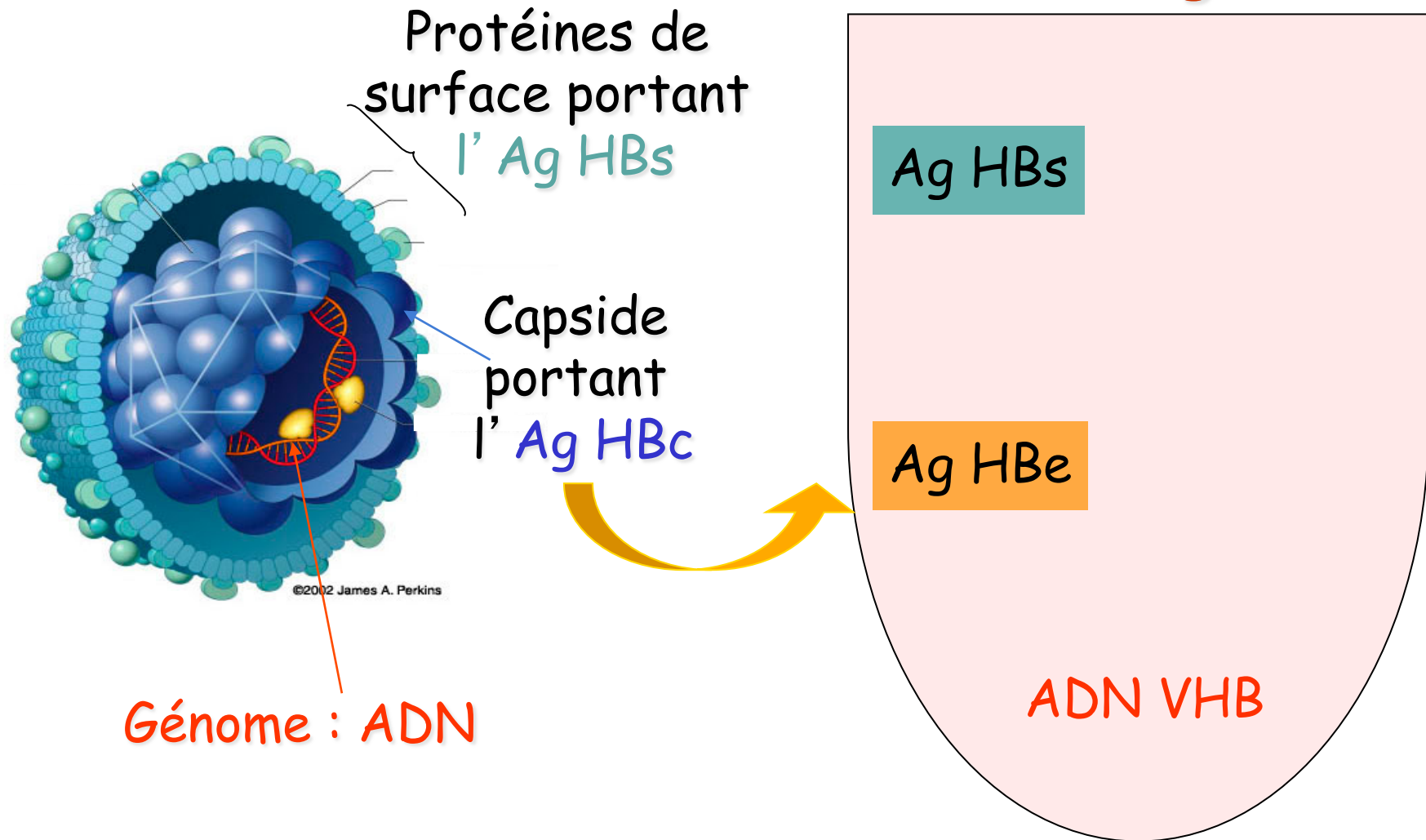
Immunofluorescence

PCR
RT-PCR



UN EXEMPLE

VHB et marqueurs directs



VHB et marqueurs directs + indirects

