

Virologie

Généralités

On divise les infections virales en différents types d'infection:

infections aiguës (de bénignes à mortelles):

bcp sont **asymptomatiques**, en gal le virus va disparaître et l'individu guérit.
Toutes les infections virales commencent par une infection aiguë.

infection chronique:

Dans 1 certain nb de situations, l'infection va persister-> donne une infection chronique, le virus s'installe et va rester tte la vie (immunodéficiences comme le VIH, hépatites).

Cancers:

1/4 est associé à un virus: Le virus n'est pas forcément la cause unique ms peut participer à la transformation. ex: hépatocarcinomes associés au virus HBV et HCV, les papillomavirus associés au cancer utérin, Herpès virus cause de lymphome, HTLV,...

Deux mots d'histoire:

- 1eres expériences sur *virus mosaïque du tabac*
- 1ers agents infectieux vus en ME ds les années 40
- découverte de la **reverse transcriptase** : caractérise les rétro-virus, est capable de produire de l'ADN à partir de la matrice ARN.
- 80's 1eres vaccinations contre la rougeole, variole, polio..., puis apparition du sida, HCV, etc... sans vaccins

Définition, organisation, structure

Qu'est ce qu'un virus?

Assemblage de macro molécules (prot, lip, sucres..) assurant le transport d'un acide nucléique (info génétik, ADN ou ARN) avec phase de multiplication (reproduction à l'identique) par parasitisme des cellules pro et eucaryotes.

parasitisme des cellules: Un virus est incapable de se multiplier seul, il va infecter une cellule hôte ds laquelle il trouvera l'énergie, les Ez etc.. nécessaires à se répliquer. En effet l'info génétique est réduite au min nécessaire à la **spécificité** du virus, dc pas de gènes codant pr des prot du métabolisme intermédiaire (prod° d'ATP, oxydation...).

Virus rentre ds la cellule:

- soit se réplique tt de suite et de manière intense : **cycles lytiques**- > 1 virus peut aboutir à des milliards de particules virales qui seront relarguées à partir de la cellule infectée.
- soit y reste très longtemps: **portage à long terme** ds d cellules hôtes (phases de latence)

NB:

Entité virus = particule virale = virion = virus en dehors de la cellule.

Il y a 2 tps ds la vie du virus: partie intracellulaire (purement moléculaire: ARN et prot st diffus) et particule virale (lorsqu'il est en transport, forme macromoléculaire: s'est reformée à la sortie de la cellule).

Postulat de Lwoff

Il y a des virus à ADN et à ARN. Seul les virus peuvent avoir un mode de stockage des info gé sous forme ARN (plantes et animaux = ADN)

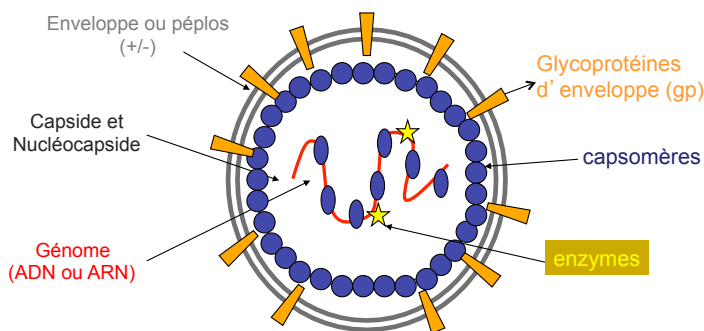
Le virus ne se reproduit qu'à partir d'un seul type d'acide nucléique: tt ce qui est annexe à l'identité génétique est codé par la cellule infectée.

Le virus est incapable de croître et de subir des divisions binaires: car c'est un parasite, il a besoin d'un hôte

Il ne contient aucune info gé concernant les enzymes du métabolisme intermédiaire
C'est un parasite stricte utilisant les structures de la cellule hôte.

Organisation générale

Monde viral s'arrête où commence monde bactérien.
Taille de qq 10n de nM (ex: picornavirus) à 200-300 (ex: poxvirus). Bactérie jusqu'au micron.



Nucléocapside = capsidite protéique (structure: sphériques, filamenteuses, icosahédriques allongées...) + **génom viral** + enzymes
-> Les virus nus n'ont que ça

Virus enveloppés: +**Péplos** = bicouche phospholipidique avec des **glycoprotéines d'enveloppe** -> rôle d'accrochage sur les cellules cibles.
NB: enzymes et glycoprot st synthétisées par le virus.

génom viral= ensemble des gènes viraux

génom viral: ADN ou ARN \Rightarrow ARN messagers viraux \Rightarrow protéines viraux

- Grande **hétérogénéité** du génom viral: ADN (taille, double brin et/ou simple brin, circulaire ou linéaire) ou ARN (taille moins hétéro, brin simple, 2ble, pluri-segmenté...)

Ex: Hépatite B: tt petit virus à ADN, Filovirus comme lassa (fièvre hémorragique): virus à ARN de morfo filamenteuse allongée.

- Une fois rentré ds la cellule, la stratégie du virus est de donner des ARN messagers viraux qui donneront naissance à des protéines. Il y a une **compaction** de l'info génétique pr avoir des particules viraux + petite consommant - d'énergie.

Classer les virus, les nommer

Il existe une classification du génom: selon la *nature du génom* (ADN ou ARN, la *symétrie de la nucléocapsidite* (icosahédrique ou hélicoïdale..), la *présence ou non d'une enveloppe* (virus nu ou enveloppé), la *structure du génom* (taille, linéaire ou circulaire..) et son *hôte*.

ex: picornaviridae = virus à ARN, nu, avec symétrie icosahédrique -> définit la **famille**.

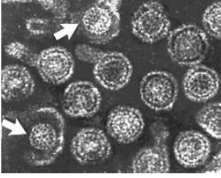
Au sein d'une famille on trouve \neq **genres** qualifiant le virus (aphtovirus, cardiovirus, entérovirus..). Et au sein de ces genres, on définit des **espèces**.

Virus diversité, morphologie

images en contraste négatif

Virus **enveloppés**:

-l'Hépatite- 30 à 40 nM



-> virus enveloppé avec à l'intérieur la nucléocapside (qu'on distingue mal).

-la Variole- pls 100n de nM

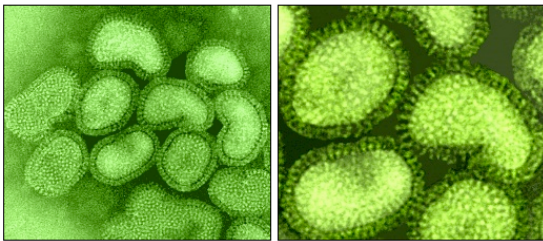


-> enveloppe avec filaments à la surface = structure inerte = téguments, nucléocapside à l'intérieur

-Influenza virus (grippe)-

Influenza virus

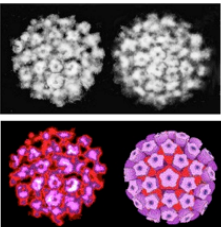
Influenza virus (an Orthomyxovirus) is responsible for acute upper respiratory disease, usually accompanied by fever and myalgia.



-> prsce d'une enveloppe, distinction pas claire de la nucléocapside

Virus **nus**:

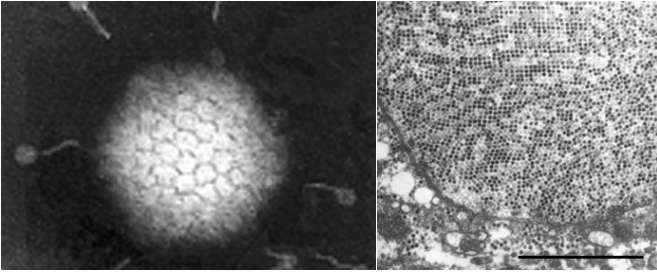
-Papillomavirus-



Virus nus : papillomavirus

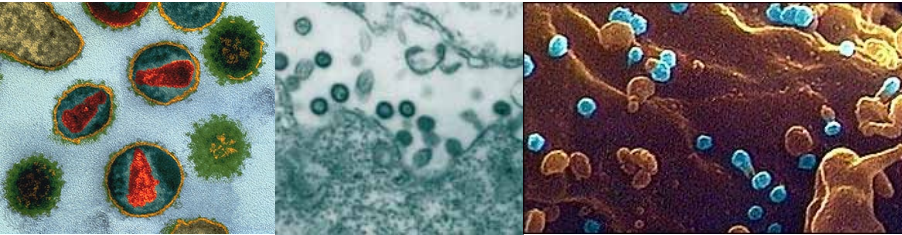
-> virus oncogène de la famille des papillomaviridae. Structure de la capside: **pentamères**

-Adénovirus-



1: structure icosaédrique avec des fibres antigéniques. on devine des pentamères aussi
2: spots=particules virales, ds le noyau (on voit la mb nucléaire)

-VIH-



1: coloration. particule VIH verte avec les glycoprot d'enveloppe autour. les autres coupés en tranche: zone jaune=enveloppe, bleu=capside sphérique, rouge=nucléocapside avec à l'intérieur le génome du VIH (2 molécules d'ARN)
2: mbne cytoplasmique avec à l'extérieures les particules virales, le virus sort de la cellule = production par **bourgeonnement**
3: M à balayage. L-CD4 infecté par le VIH et à partir duquel les particules virales bourgeonnent.

Virus **filamenteux**:

-Ebola (fièvres hémorragiques)-



-> génome enroulé à l'int, nucléocapside hélicoïdale. manipulé ds des structures L4 (source bio séparée de l'expérimentateur). L3 pr VIH (isolent source bio et expé de l'ext).

Multiplication des virus

(= réplication, traduction, transcription et régulation). réplication n'est que multiplication du génome.

Virus parasite de la cellule

Le cycle de multiplication viral: particule entre ds la C, disparaît et subit des régulations puis une autre se reforme et va sortir de la C. Rappel:

- parasitisme strict, pas d'enzymes du métabolisme
- cycle lytique, cycle tempéré, latence.

Objectif: X° du nb de particules virales pr empêcher l'immunité de pvr tt éliminer:

- par production massive de virions
- en restant longtemps ds la C avec production incessante de nvx virions.

-> à partir d'1 génome viral: produire ttes les protéines virales nécessaires à la duplication.

Cycle de réplication: principales étapes

- 1) *entrée*: bcp d'éléments se mettent en place pour **adhésion** puis **pénétration**
 - 2) *décapsidation*: pr rendre l'acide nucléique accessible à la fabricat° des futurs génomes
 - 3) *réplication*: fabrication et régulation de ttes les prot respbles de la X° du génome.
 - 4) *expression*: peut se fr ds le noyau ou le cytoplasme (selon si ADN ou ARN)
 - 5) *production* qui permet de reformer le virus puis sortie.
- > Cycle puisque point d'arrivée=point de départ ms avec bcp plus de virions.

1) Entrée

Fixation de la particule virale

fixation obligatoire avant de pénétrer ds la cellule:

- Au début, **interaction faible** grâce aux fluides et mvmts \leftrightarrow (héparon sulfate, motifs glycolysés)
- Puis qqs **Van der Waals** pdt qqs msc et qd compatibilité, **Interaction forte** et **spécifique** entre Rc viral et Rc Cr : entrée ds la cellule.
- Petit à petit, **densification** des interactions entre prot du même type d'un côté et de l'autre-> particule virale vraiment **encreée**.

Notion de **tropisme**:

- certains virus ont des Rc «très larges» c'est à dire qu'on les retrouve chez bcp de \leftrightarrow dc vont pvr infecter n'importe quoi → **tropisme très large**. ex: *adénovirus ont comme Rc les intégrines retrouvées partt*
- d'autres ont un **tropisme très restreint**. ex: *VIH infecte seulement les LT4 et les monocytes macrophages car Rc= prot CD4.*
vaccination: Ac bloquant l'interaction. Pb VIG: pas d'Ac bloquant l'interaction entre CD4 et C cible.

Mécanisme d'entrée

1. Formation d'un **pore**:

Rare. Ancrage de la particule, perturbation de la mb Cr et désorganisation du feuillet lipidique-> forme un pore.

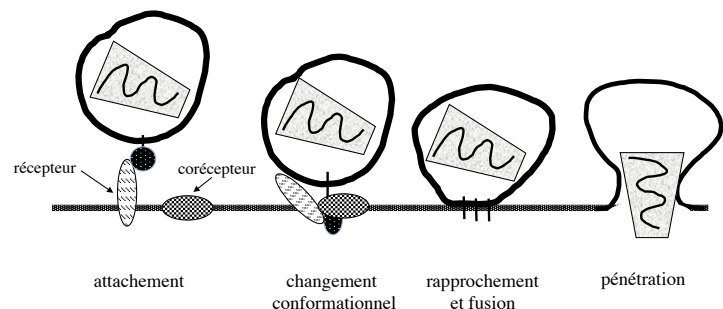
ex: *infection des bactéries par les bactériophages*

2. Entrée par **fusion**:

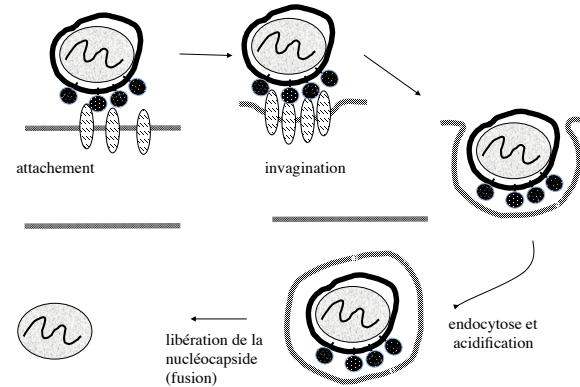
Très fréquent ms ne concerne que les virus enveloppés car fusion entre 2 mbs.

-> attachement (prot virales de surface/ récepteurs cellulaires)

-> changement conformationnel par interaction avec d'autre prot de la mb (co-Rc) permettant le :



-> rapprochement et fusion entre la membrane virale et la mbne de la cellule-> continuité permettant la:
-> pénétration de la capsid ds la C.



3. Entrée par **endocytose**:

- attachement: interaction entre Rc et glycoprot virale -> **aggrégation** de prot -> nbs zones d'accrochage -> déclanche l'endocytose par fabrication d'un **endosome** et **phagocytose** de la particule virale:
- invagination puis
- vésicule d'endocytose et acidification provoquant la
- libération de la nucléocapside (fusion)

ex: *virus de la grippe*

2) Réplication

Cas des virus à ARN génomique: ds cyto la plupart du tps

- > Soit ARN rentrant tout de suite pris en charge par un **ribosome** donc traduction directe. Ce qui implique que le sens de l'ARN soit le bon (bon codon) -> **polarité positive**
- > Soit ARN pas traductible directement-> fabriquer le brin complémentaire que les ribosomes pvt traduire (ex virus grippe). Nécessite **ARN polymérase** ARN dep qui n'existe pas ds l'eucaryote (identité du virus). -> **polarité négative**

La polymérase forme un dble brin ARN, arrive au bout, repart ds l'autre sens sur le brin + qu'elle vient de fabriquer pr créer un brin - qu'elle reconvertira ensuite etc..

-> **fabrication de génome+++**

Thérapeutique: dvlper des molécules qui touchent uniquement les étapes spécifiques du virus, sinon on bloque la cellule aussi (en bloquant les intermédiaires de réplication->ARN double brin par ex).

Cas part: ARN double brin de grosse taille nucléotide -> reconnu par des prot qui envoient des signaux à la C qui sait alors qu'elle est infectée -> production de molécules antivirales dt interférons alpha et bêta (cytokines) pr vaincre l'infection.

Cas des virus à ADN: ds le noyau (seul lieu où psce d'ez fabriquant des ARNm)

Génome à ADN va ds noyau->utilise système de transcription du noyau->forme ARNm qui va ds le cyto->forme des prot virales.

En plus des prot de la capsid, glycoprot d'enveloppe, enz spé, il existe des **protéines régulatrices du virus**. On ne les trouve pas ds la part virale. Le virus doit vivre un peu «caché» pr survivre. Pr cela il faut ces prot qui empêchent de produire de nvx virions qd l'immunité est trop forte, en attendant une faiblesse. ex: *virus de l'herpes*.

-> **1ere chose que fais le virus qui rentre d la cell: transcrire et traduire ces prot régulatrices.**

- environnement pas favorable à la fabrication de prot de capsid->**repos**
- favorable-> **2 eme phase du cycle**: phase tardive ou productive.

Notion de physiopathologie virale

Traverser les muqueuses ou l'épiderme

Peau, épiderme : structure kératinisée **protégée** par des C mortes (il faut des C vivantes pr que le virus puisse se multiplier). Mais érosion, blessure, morsure, piqûre insectes, aiguille... transfusions, actes invasifs... permettent l'entrée.

Les muqueuses : cellules vivantes **barrières moins efficaces**. Heureusement défenses innées non spécifiques: mucus, pH extrêmes (intestins), Ez protéolytiques, tapis ciliaires. + production de bcp **d'interférons** en réponse à l'infection virale -> les mettent en situation de résistance, deviennent réfractaire à la diffusion du virus.

Tableau à titre indicatif:

Panorama des virus d'intérêt médical et transmission

Virus à ADN		Virus à ARN	
Nus	Enveloppés	Nus	Enveloppés
Adéno D R ∞ Papilloma C S ∞ JC et BK virus ∞ Parvo B19 R	<i>Herpesviridae</i> ∞ : - Herpes simplex M S G ∞ - Varicelle-Zona R ∞ - CMV S M G T ∞ - E-BV S M G T ∞ - HHV-6 à 8 ∞ - Herpes B du singe C ***	Entérovirus D HAV D Rhinovirus R Rotavirus D Astrovirus D Calicivirus D	Myxovirus Influenza : - Grippe R <i>Paramyxoviridae</i> : - Para-Influenza R - Oreillons R - Rougeole R (∞) - RS R <i>Coronaviridae</i> R Rubéole R <i>Flaviviridae</i> : - Fièvre jaune C *** - HCV G T C ∞ Rage C (G) *** Lassa, Hanta R *** Ebola, Marbourg R *** <i>Retroviridae</i> ∞ : - HIV-1 et 2 S M G T C ∞ *** - HTLV-1 et 2 S M G T C ∞
Virus complexes :			
HBV S M T C ∞ <i>Poxviridae</i> : - Variole R *** - Vaccine C			

D Voie digestive
R Voie respiratoire
M Echanges mère-enfant
S Voie sexuelle
T Transfusion sanguine
G Greffe
C Voie transcutanée
∞ Infection virale persistante

A part, les prions ou ATNC *** (protéine autorépliquable ?) **G** et sans doute **D** pour l'ESB

*** Haute mortalité

NB:

virus enveloppés plus fragiles que nus à cause de l'enveloppe lipidique plus complexe (qui dit lipidique dit sensibilité à des événements de l'environnement comme: solvants, détergents etC..)

Les 2 grandes familles d'infections virales

Les Infections aiguës

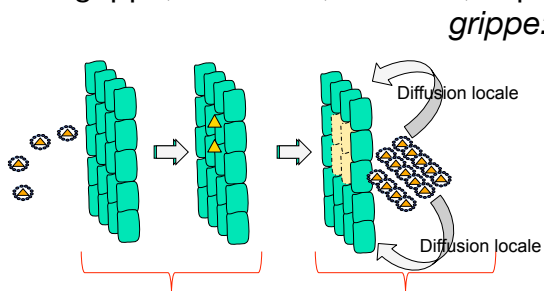
!/ S'applique à tous les virus lors d'une primo infection

- Multiplication virale **intense et rapide**
- peut être **symptomatique ou asymptomatique**
- S'il traverse la muqueuse, le virus va diffuser à travers la lymphe qui lui sert de véhicule, s'il entre par voie sanguine, il diffusera directement.

On a alors 2 types d'infections:

localisée: porte d'entrée = site de multiplication et pathologie (organe cible = organe dont l'infection donne les signes cliniques de la maladie).

ex: grippe, rhinovirus, rotavirus, hépatite B



grippe: Rc= acide sialique,

ds tractus des voies aériennes sup.

La muqueuse réagit, envoie des signaux inf (cytok, fièvre)

Porte d'entrée= organe cible, d'où incubation courte: le lendemain, symptomatologie.

NB: !/ la Maj des inf° virale est asymptomatique

généralisée: symptômes plrs j après, le tps que le virus atteigne les sites cibles ≠ de la porte d'entrée. ex: varicelle, rougeolle

- Evolution: élimination du virus en 15j-3s, ou **infection persistante**.

Les infections persistantes

→ malgré une immunité spécifique de bonne qualité, virus persiste ds l'organisme; il y a des virus donnant tout le tps des infections persistantes (ex Herpès. 95% pop° est infectée par Epstein Bar).

- **Les infections chroniques** -> **Hépatites, VIH**.

Les cellules cibles contiennent du virus produit à **bas bruit** (pas de réplication intense) en **permanence** pour se maintenir.

- **Les infections latentes avec phase de réactivation** -> **Herpès (HSV, EBV, CMV, HVZ...)**

Le virus rentre puis se «cache», pdt des années il peut n'y avoir aucune production de particule virale.

On mesure la **virémie** (témoin de l'état de la réplication virale à un moment donné) = quantité de génome viral circulant en périph ds le sang. Elle permet de suivre l'efficacité d'un traitement. NB: pas de particules pdt phase de latence, la virémie s'élève pdt la réactivation.

Pour ces infections, la **vaccination est difficile**, il faut **dvlpper des antiviraux**.

Ex du virus de l'**Herpès** (HSV):

Type 1 à tropisme oral et buccal, *type 2* à tropisme muqueuse génitale (surtt chez femme)

Primo-infection

Il se réplique ds les C épithéliales, atteint les terminaisons nerveuses qui irriguent le territoire concerné. Les capsides remontent (voie neuronale **centripète** vers le gglion de **Gasser**) par les axones, se logent ds le corps de l'axone (sensitif) et y restent X tps (pls mois ou années) -> infection latente. L'ADN viral est sous forme d'**épisode**.

Réactivation

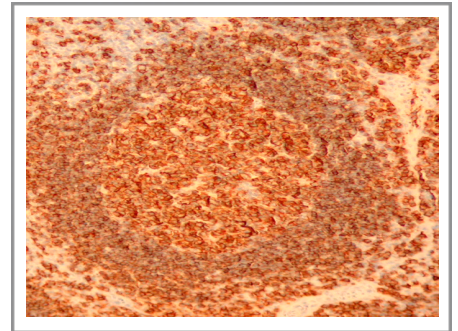
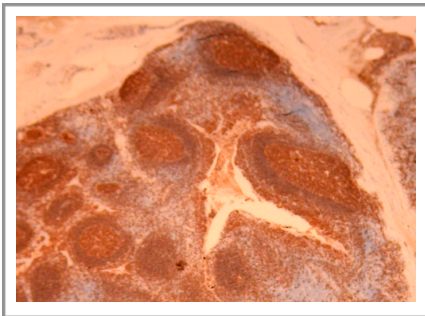
Sous l'influence de ≠ facteurs (grossesse, immunodépress°...) → immunité faible, le virus se réactive, se réplique, puis fabrique des particules virales qui vont faire le **trajet inverse** (retournent vers le site périph de la primo inf°). Et de nveau: multiplication et excrétion virale ds l'épith (avc ou sans lésion), permettant l'infection de nouveaux individus.

EBV (famille de l'Herpès)

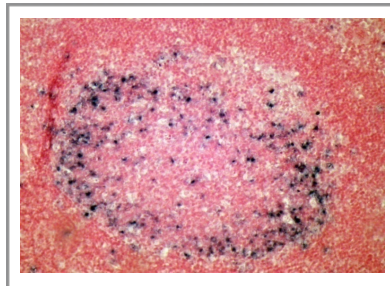
Infecte 95% de pop° mondiale. On a une symptomatologie pdt la phase aigüe: **mononucléose infectieuse** attrapée par voie salivaire vers 13-15 ans («maladie du baiser», ms peut s'attraper de pleins d'autres façon et à tt moment), porte d'entrée = l'amygdale. TT le monde ne dvlppe pas la maladie (sympto/asympto).

L'amygdale est un ensemble lymphoïde contenant des clones lymphocytaires en phase de multiplication = <- **centre germinatif**.

couleur marron = Ac spé contre CD20, marqueur des LB ->



Ici: hybridation in situ. chaque point noir est un LB infecté par EB



Qd virus ds la salive, rencontre C épith, infecte la muqueuse buccale (amygdales notamment). EBV infecte les LB sous-jacents, en prend les commandes par ses prot **régulatrices** (orient° diff°, multiplicat°)

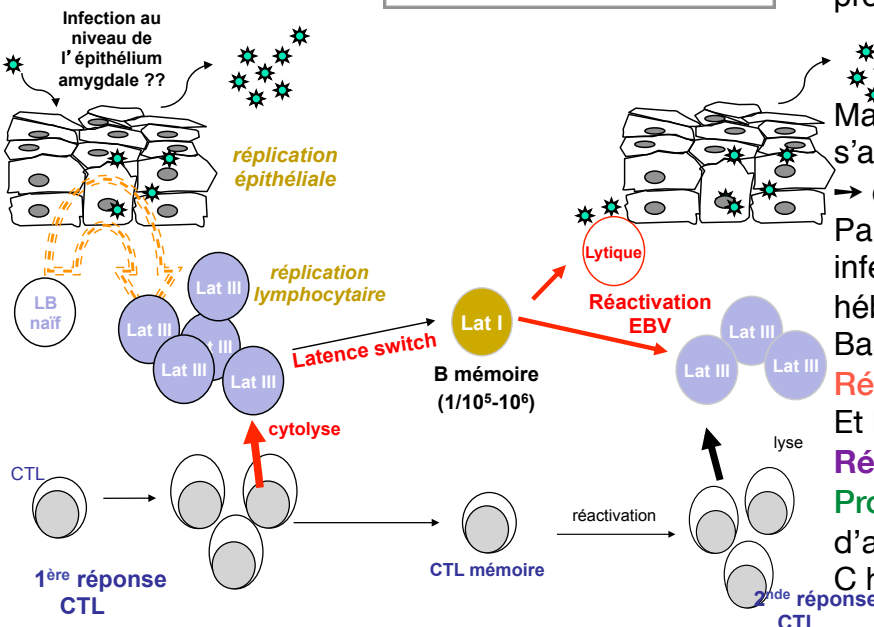
= **phase de latence III**

Mais réponse immtR: LT cyto (CD8) s'amplifient, migrent, reco les LB infectés → destruct° (**cytolysse**).

Parade du virus: petit nb de LB très peu infectés → virus invisible des LT ms reste hébergé = **phase de latence I**

Bascule vers Lat III qd immunité baisse = **Réactivation**

Et bascule possible aussi d phases de **Régulation** (I et III) vers d phases de **Production** de part virales pr contaminer d'autres personnes: sites **lytiques** (lyse d C hébergées par le virus).



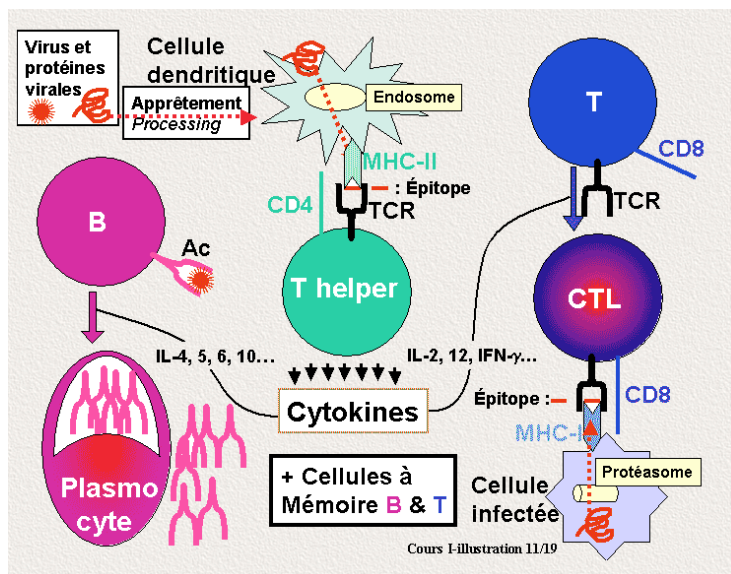
Les moyens de défense

Défense innée non spécifique : première ligne dès le franchissement de la muqueuse

- Des cytokines : interférons alpha, β et des cytokines
- Natural killer (NK)
- Protection physique et mécanique
- Macrophage et cellules dendritiques (maturation des antigènes)

Défense immune spécifique : 2 actions synergiques

- Anticorps : immunité humorale - anticorps bloquants
Virus circulants - cellules infectées (complément)
- Cellules immunes : lymphocytes cytotoxiques (CD8) auxiliaires (CD4)
Destruction des cellules infectées exprimant des antigènes viraux



-voir cours immuno -

Variabilité génétique des virus

Conséquences de la variabilité génétique

Mutation= changement de nucléotide ds le génome.

Une mutatio^o apparaît au hasard des évènements de répliquatio^o du génome et peut avoir plusieurs destins:

Mutations défavorables: protéines **non-fonctionnelles**, mauvais fitness: réplication lente et désavantage sélectif. → phénotype défavorable (pas viable).

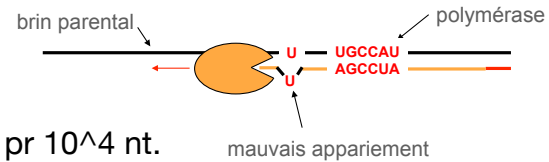
Mutations favorables: **Avantages sélectifs:** immT, cellulaire, ttt. → phénotype favorable

Mutations silencieuses (neutres): pas d'effet immédiat. ni avantage ni désavantage, se multiplie co son parent. Peuvent à un moment se révéler favorables ou défavorables.

Variations mineurs: mutations

Elles sont créées par les **polymérase**s (ADN ou ARN selon le virus): s'accrochent au brin parental (viral puisque celui-ci vient de rentrer ds la cellule), et fabriquent une copie par **complémentarité des bases**.

Parfois elles font des erreurs: **mésappariement**. Arrive aussi chez les eucaryotes mais eux ont un système de **correction** (par activité **exo-nucléase**) **et pas les virus**.



De plus, elles commettent **bcp plus d'erreur que les virus**: 1 pr 10^4 nt.
 ex: Pr L'HC avec ses 9500nt, la polym va commettre 1 err/2 à chaque nouveau brin synthétisé à partir du brin parental qui vient de rentrer: chaque brin synthétisé n'aura donc pas la même séquence départ.

Variation majeure: saut génétique et recombinaisons
 pas vu en cours

Conséquences de la variabilité génétique

Ex: erreur d'incorporati° du U-> A à la place: isoleucine (hydrophobe)->lysine (hydrophile)
 -> changement de polarité induisant des répercussions ++ sur la **topologie finale de la prot.**

•séquence correcte:

AUG.....UUUUAUAGAUAGC.....UAA
 met..... phe- ile - asp - ser.....stop

•séquence mutée:

AUG.....UUUUA**A**AGAUAGC.....UAA
 met..... phe- **lys** - asp - ser.....stop

→ **nouvel épitope sur la protéine virale**

•Virus rencontre pr la 1ere fois un organisme: **primo-infection**. A partir du moment où il y a accrochage sur la ϕ -> infection. Donc

enveloppe imp pr la reco du Rc viral.

- Qqs semaines passent, IgM et IgG produits: **indiv immunisé**. Prod° d'Ac contre les prot du virus, notamment ces prot d'enveloppe -> ne peut plus s'accrocher -> ϕ ne peut être infectée.
- Quand mutations, 2 cas possibles:
 - **Mutation défavorable**: la nvelle topologie de la prot d'enveloppe ne permet pas l'accrochage à la ϕ -> **non fonctionnelle**
 - **Mutation favorable**: malgré les modif de structure, la glycoprot d'enveloppe est capable de s'accrocher au Rc de la ϕ **fonctionnelle**. Ac ne reconnaissent pas la nvelle structure: la particule n'est plus bloquée et sera **sélectionnée**. Le virus va pouvoir infecter d'autres ϕ .

→ **Variabilité génétique + erreurs non corrigées = bcp de mutants, la plupart déchets ms certains avantage sélectif.**

Rappel: les Ac empêchent les virus d'infecter les ϕ **saines**
 Les lymphocytes agissent sur les ϕ **infectée**

Les quasiespèces

Sans arrêt, des mutations vont apparaitre, aboutissant à des **quasiespèces**= individus diff au sein de l'espèce, en proportions diff chez l'hôte. On médicamente le patient: les virus disparaissent SAUF une quasiespèce contenant une mutation silencieuse jusqu'à pst, très peu sensible au médicament (inhibiteur de protéase). Ces virus vont émerger, devenir prioritaires puis **majoritaires** ds les sqces que l'on va trouver:

échec thérapeutique = échappement du virus à la pression de sélect° induite par le médicament, dc **résistance à une thérapeutique**.

Principe de la Trithérapie = 3 molécules:

- 1 qui agit uniquement sur la réverse-transcriptase
- 1 sur les protéases
- 1 sur les mécanismes d'entrée du virus ds la c

Un virus résistant à ces 3 mol est un virus qui a 3 mutations résistant à chacune de ces mol: probabilité faible! (car hasard choisit ces mutations)

→ Idée: multiplier les pressions de sélection pr éviter que des virus résistant échappent au traitement.

Bilan:

Polymérase virales font des **erreurs, pas de correction** -> nouveau génome contient des erreur -> donne naissance à un virus avec:

- Mutations défavorables: virus ne pourra jms se répliquer → déchet va partir.
- Mutation silencieuse: virus vont **coexister**: répartition en **quasiespèces** ds l'organisme.
- Mutation favorable: changement ds l'environnement extérieur (L cytotoxiques, nvx Ac ou mol thérapeutique) et les **séquences st favorables**, les virus vont être **sélectionnés**: ils échappent au Système immunitR.

Examens virologiques en pratique médicale

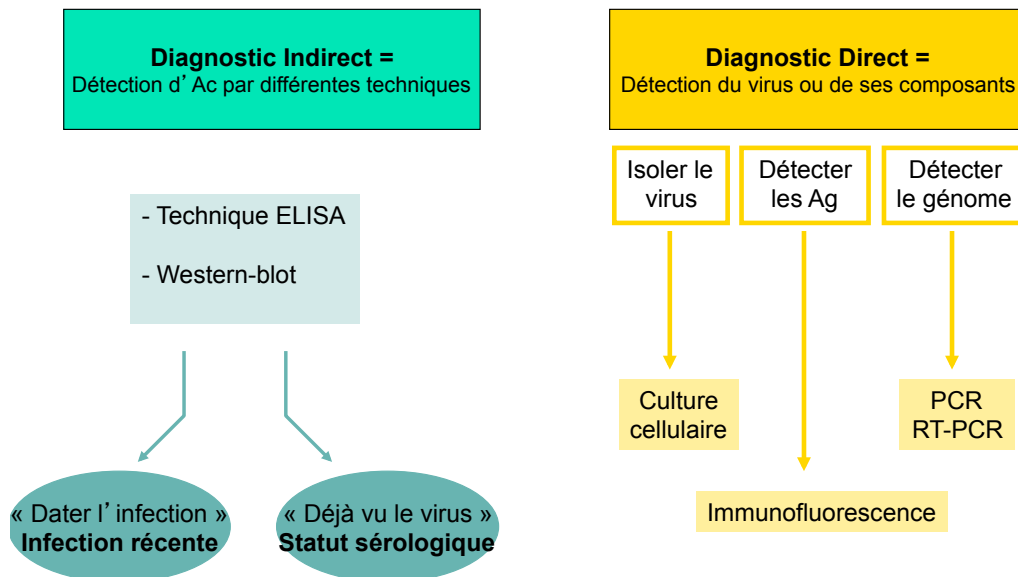
Il y a 2 sortes d'examen pour faire un diagnostic positif:

En **diagnostique direct**: recherche du virus ou de ses constituants (prot ou génome)

-> Le virus est-il encore là?

En **diagnostique indirect**: recherche des anticorps

-> le virus est-il passé par là?



Diagnostique indirect ou sérologie

Prélèvement

On fait la sérologie à partir du **sérum** obtenu après **centrifugation** d'un tube (sec gélosé) de sang issu d'un **prélèvement**. Les autres liquides bio n'ont plus d'importance (LCR, amniotique, pleural, LBA...).

Recherche d'AC

On utilise la technique **ELISA** (= *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*).

Ex: on veut savoir si un individu a été vacciné contre l'Hépatite B.

-> Ds un puits contenant les AG-HBS, on met le sérum du patient.

-> liaison AG-AC

-> révélation grâce à des AC 2ndR colorés (AC anti AC-humain)

NB: réponse imm en 2 tps -> AC= IgM **puis** IgG, **mais les IgM peuvent être présents en cas de réactivation!!** Donc pr dater l'infection, on définit les AC.

Il y a d'autres moyen: exemple **bande** test rapide pr HIV, qui sera confirmé par **Western blot**.

Comment la sérologie peut elle servir au diag d'une primo-infection?

Il faudrait 2 sérums prélevés à 10-15j d'intervalle, le premier devant être négatif et le 2nd positif, ce qui soulignera l'apparition d'AC et donc la primo-infection → il faut de la **chance!!!**

La sérologie sert en fait à déterminer le **statut sérologique** = cicatrice laissée par le passage d'un virus. (ex: rechercher IgG pr savoir si tjs vacciné).

NB: pr une sérologie positive à Hépatite C et VIH: 2m prélèvement obligatoire (loi).

Diagnostic direct: détect° du virus ou de ses composants

- Prélèvements: **PAS QUE DU SANG !!!**

- récipient sec stérile: aspirations naso-pharyngées, selles, urines, LCR...
- écouvillon stérile immergé ds un milieu de transport (grge, vésicules, conjonctives)
- Tube de sang ou de plasma

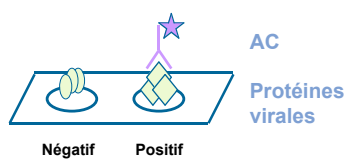
- La **qualité** du prélèvement conditionne le résultat:

Il faut d C +++ , gratter sur les berges -> C vivantes et non nécrosées

- Virus = fragile -> on cherche la psce du virus + **C infectées**

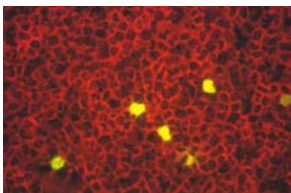
- **Acheminer au labo ds les 4 heures**

Diag direct «rapide»

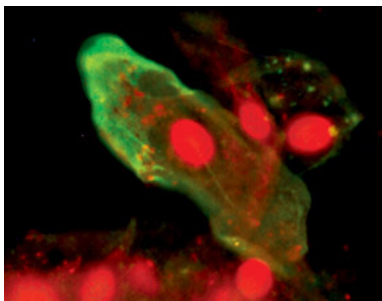


Technique: les C st déposées sur une lame de verre, les Ag sont en suite détectés par immunomarquage. Permet de voir directement si la C est infectée, mais il faut **cibler**, on ne peut pas aller au harad.

Résultats ds les 2h qui suivent



Indications: Prise en charge rapide, infections respi (grippe, VRS), chez patients immunodéprimés (CMV), femmes enceintes (HSV).



IF grippe A

Diag direct par culture

Si on ne sait pas où/ quoi chercher, on fait une culture Cr.

Etapas:

- Inoculation du prélèvement sur différents supports cellulaires
- Recherche 3 fois/sem d'un effet **cytopathique** -> la multiplication du virus entraîne souvent la lyse des C infectées.
- Si **ECP (effet cytopathogène)**: identification par: colorat°, immunomarquage spé, neutralisation.

Avantages:

Sensibilité, **prouve** le caractère infectieux du virus, permet d'isoler la souche

Contraintes:

Hotte à flux laminaire, matériel jetable et stérile



Diag par biologie moléculaire

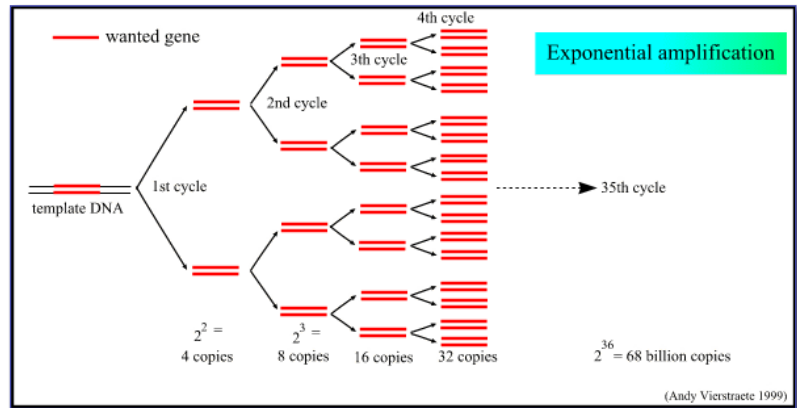
Amplification génique:

Par PCR ou RT-PCR suivant le génome

-> **PCR qualitative** si cet ADN est + ou - : recopiage d'une portion limitée du génome viral (on double la qté d'ADN à chaque cycle)

-> **PCR quantitative** si on demande le suivi d'une infection chronique (HIC, HBV, HCV, EBV). Ex: séro d'hépatite C + -> patiente a le virus ou a guérit? PCR nous dira si malade ou non.

-> suivi parfois du séquençage nucléotidique = **séquençage exact**.



Avantage:

Sensibilité, **technique quantitative = charge virale**, séquence exacte permettant une adaptat° thérapeutique.

Contraintes:

Risque de contamination

Exemple de l'Hépatite B

Le virus est structuré ainsi

- enveloppe -> contient AG HBs
- capside -> porte AG HBc
- à l'int -> génome

Ds un tube de sang, on va chercher les AC, mais aussi les AG par immunofluo: on retrouve **HBs**, **HBe** (cousin d'HBc) et l'**ADN viral**. On a donc **3 marqueurs directs** du virus, mais aussi des **marqueurs indirects** de réponse imm: **AC anti HBs, HBe, HBc**.

