

Diagnostic et suivi des infections virales

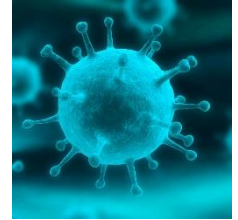
DUACAI – 2021



Diagnostic & suivi des infections virales - Définitions

Identifier la nature et la cause d'une infection

- Est-ce une infection virale?
- Quel est le virus en cause?



Une fois le virus identifié, suivre le déroulement de l'infection

Diagnostic & suivi des infections virales - Plan

- **Prélèvements biologiques**
- **Principes du diagnostic Direct - Indirect**
- **Diagnostic direct**
 - **Isolement viral**
 - **Recherche d'antigènes viraux**
 - **Recherche de génomes viraux**
- **Diagnostic indirect**
 - **Recherches d'anticorps**
- **Combiner Direct et Indirect**
- **Vie quotidienne au laboratoire de virologie**

Diagnostic & suivi des infections virales

Echantillons

3 éléments fondamentaux

1. Un seul type d'acide nucléique : ADN ou ARN
2. Reproduction à partir de son propre matériel génétique
3. **Parasitisme intracellulaire obligatoire**

André Lwoff, 1953



Diagnostic & suivi des infections virales

Echantillons

Qualité de l'échantillon biologique

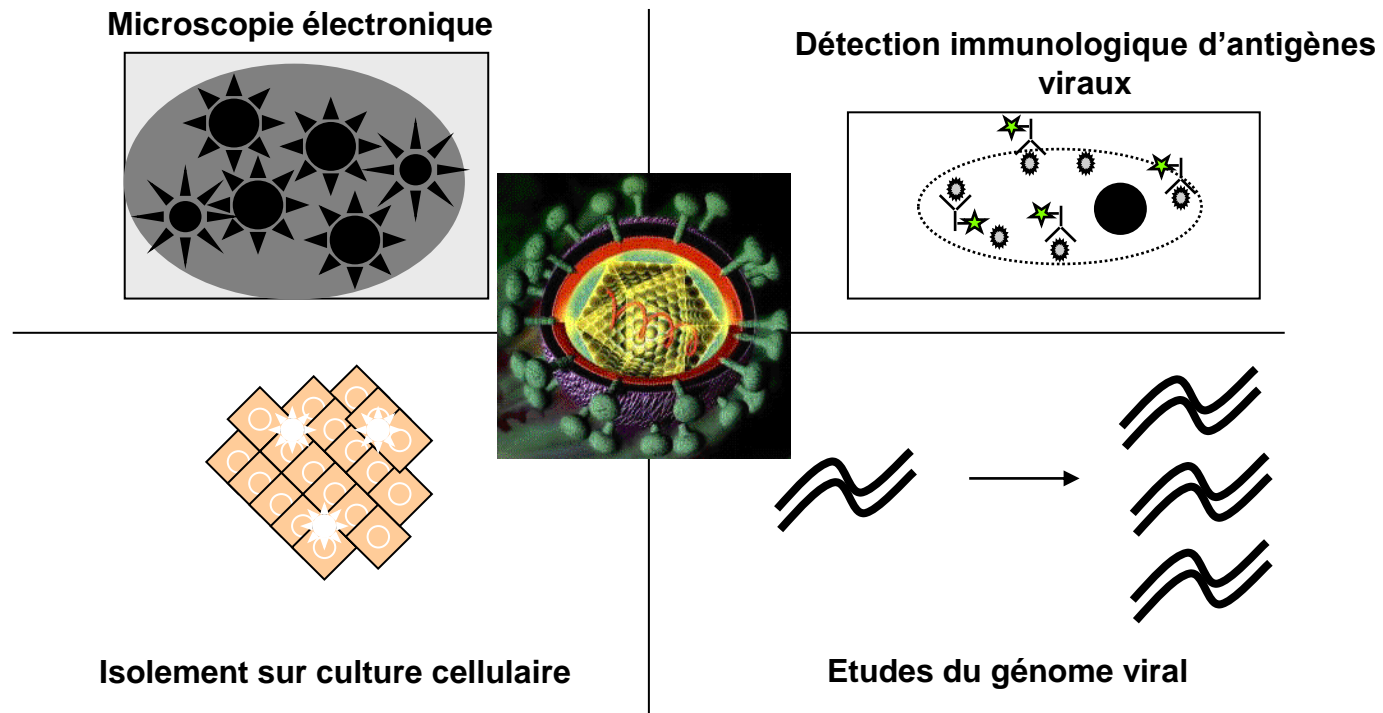
- 1. Prélevé au bon moment**
- 2. Conservé et acheminé dans les bonnes conditions**
- 3. Correctement renseigné**

Diagnostic & suivi des infections virales - Plan

- **Prélèvements biologiques**
- **Principes du diagnostic Direct - Indirect**
- **Diagnostic direct**
 - **Isolement viral**
 - **Recherche d'antigènes viraux**
 - **Recherche de génomes viraux**
- **Diagnostic indirect**
 - **Recherches d'anticorps**
- **Combiner Direct et Indirect**
- **Vie quotidienne au laboratoire de virologie**

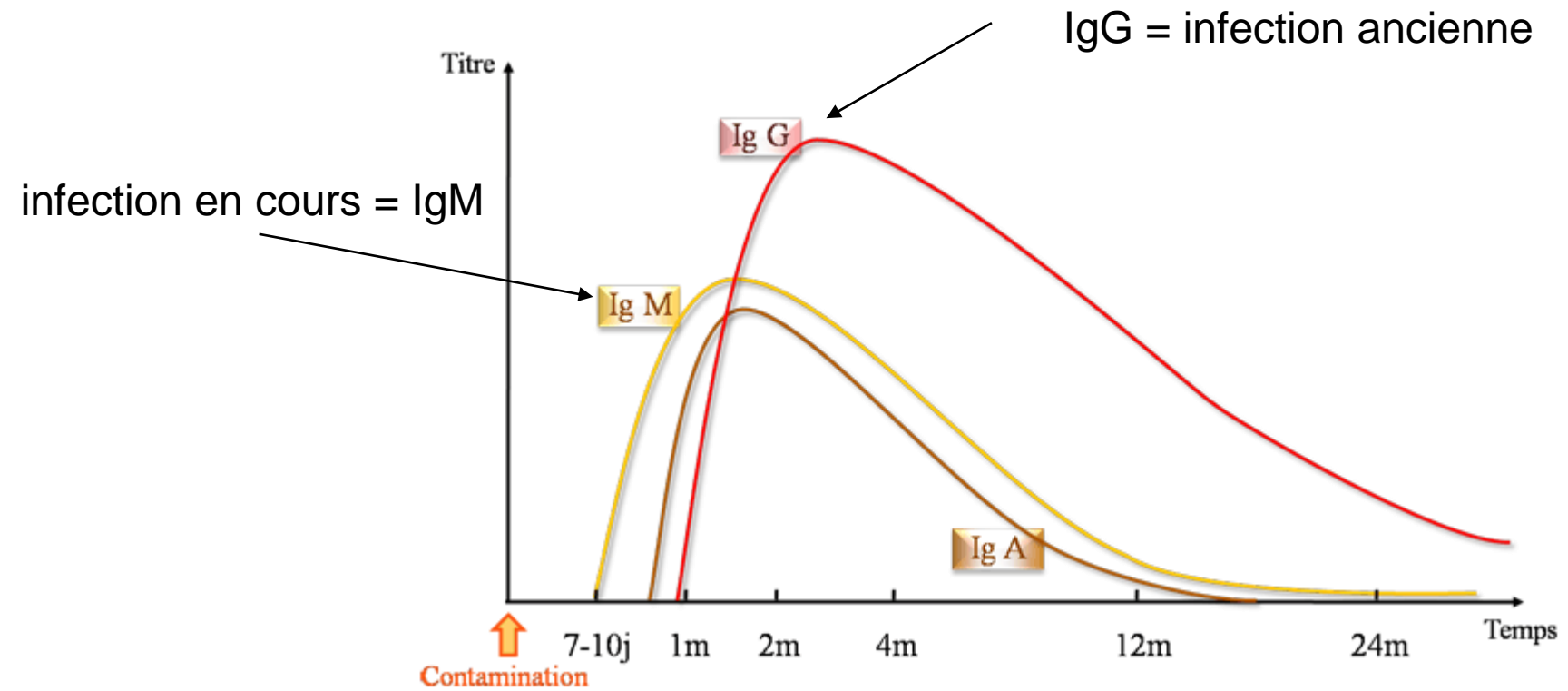
Principes des diagnostics direct et indirect

Diagnostic direct = mettre en évidence le virus ou un de ses constituants



Principes des diagnostics direct et indirect

Diagnostic indirect : détecter des anticorps synthétisés en réaction à une infection virale



Principes des diagnostics direct et indirect

Stratégies

Diagnostic DIRECT

Suivi des infections

- Infections chroniques

Preuve d'une origine virale

- Décision thérapeutique
- Situations difficiles

Contrôle des épidémies

- Services hospitaliers
- EHPAD
- Autres

Epidémiologie

Diagnostic INDIRECT

Dépistage obligatoire

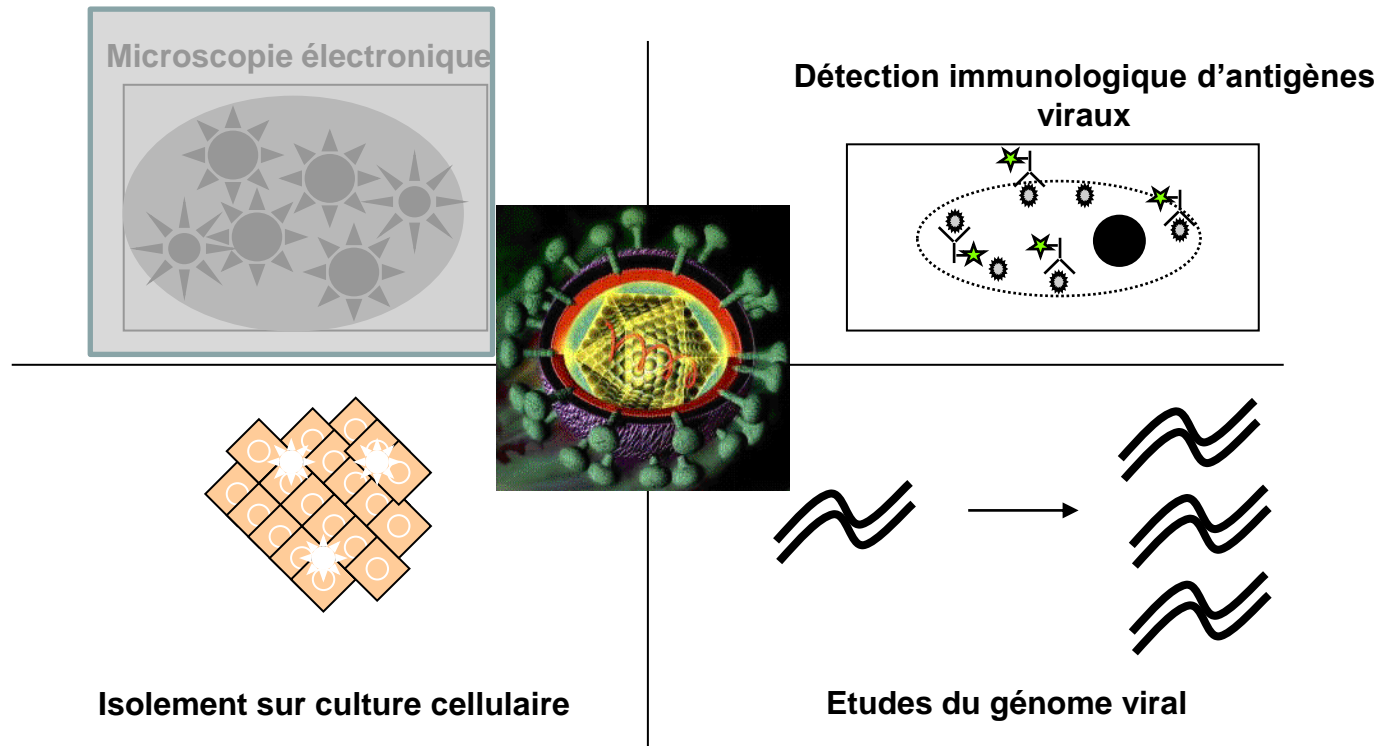
- Dons (sang, tissus...)
- Préthérapeutique

Diagnostic & suivi des infections virales - Plan

- **Prélèvements biologiques**
- **Principes du diagnostic Direct - Indirect**
- **Diagnostic direct**
 - **Isolement viral**
 - **Recherche d'antigènes viraux**
 - **Recherche de génomes viraux**
- **Diagnostic indirect**
 - **Recherches d'anticorps**
- **Combiner Direct et Indirect**
- **Vie quotidienne au laboratoire de virologie**

Diagnostic direct

Diagnostic direct : mettre en évidence le virus ou un de ses constituants



Diagnostic direct – Isolement viral

- **Isolement viral en culture cellulaire : technique qui amplifie (multiplie) le virus**
- **L'amplification nécessite plusieurs cycles de réplication dans des cellules en culture**
- **Dans certains cas, la réplication virale se traduit par l'apparition d'un effet cytopathogène (ECP) :**
 - **ensemble des modifications cellulaires associées à la réplication virale**

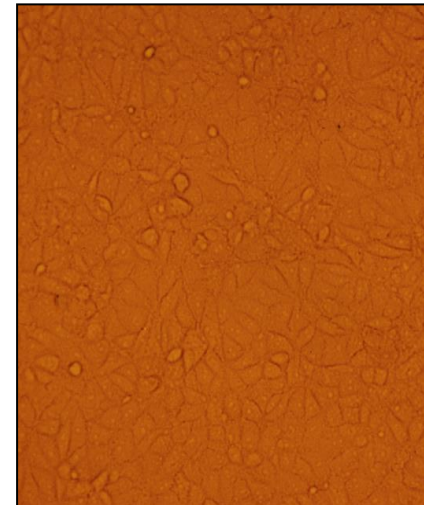
Diagnostic direct – Isolement viral

Cellules permissives en culture

- Cellules primaires – peu utilisées
- Lignées continues +++
- Fibroblastes embryonnaires humains +



ECP de CMV sur cellules MRC5



Cellules HeLa



Diagnostic direct – Isolement viral

Avantages

- **Production de virus infectieux**
- Technique de référence

Inconvénients

- Fastidieux : manuel, entretien des cellules
- Personnel qualifié compétent +++

Limites

- Certains virus ne se répliquent pas sur cultures cellulaires = HCV, HBV, HAV, HEV, HPV, Rubéole...
- Certains virus ne donnent pas d'ECP = grippe

Applications

- Suspicion d'infection congénitale à Cytomégalovirus
=> CMV dans urines du nouveau-né ?
- Infection respiratoire sans orientation

Diagnostic direct – Recherche d’antigènes viraux

Immunofluorescence (IF)

- A partir d’un échantillon biologique **contenant des cellules infectées**
- Utilise des anticorps monoclonaux couplés à des fluorochromes :
distinguer IF directe et IF indirecte
- S’observe en microscopie à fluorescence

Avantages

- **Rapide, sensible, spécifique**
- **Peu coûteux**

Inconvénients

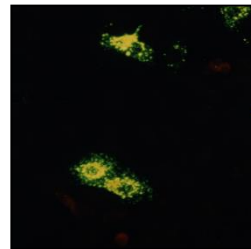
- Pas toujours facile à lire

Limites

- Faux positifs/Faux négatifs

Applications

- **Détection de virus respiratoires à partir de prélèvements respiratoires**
- **Typages de virus après isolement en culture cellulaire**



Diagnostic direct – Recherche d'antigènes viraux

ELISA

- Antigènes **produits au cours d'une infection**
 - HIV = p24
 - HBV = HBe, HBs
- Suivi des infections, quantification

Avantages

- Rapide, sensible, spécifique
- Peu coûteux
- Automatisé

Inconvénients

- Faux positifs/Faux négatifs

Applications

- Diagnostic et suivi des hépatites B
- Diagnostic de la primo-infection à HIV = Ag p24



Diagnostic direct – Recherche de génomes viraux

Basées sur les techniques de biologie moléculaire

- PCR, RT-PCR
- Séquençage

Utilisées pour des virus non cultivables

- HPV
- HCV, HBV, HEV

Apportent des réponses quantitatives

- Suivi des personnes infectées

Avantages

- Sensible, spécifique +++
- Peut être multiplex, quantitatif
- Peut être rapide (3h)

Inconvénients

- Coûteux +++
- Personnel qualifié +++



PCR temps réel quantitative

Diagnostic direct – Recherche de génomes viraux

Limites

- Le génome détecté reflète-t-il une infection en cours?

Applications

- Diagnostic des infections respiratoires (SARS-CoV-2, Grippe...)
- Diagnostic et suivi des hépatites B, C, E
- Diagnostic et suivi des infections à HIV
- Diagnostic des infections de l'immunodéprimé
- Diagnostic des infections à HPV...

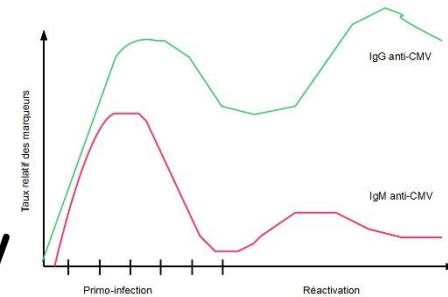
Diagnostic & suivi des infections virales - Plan

- **Prélèvements biologiques**
- **Principes du diagnostic Direct - Indirect**
- **Diagnostic direct**
 - **Isolement viral**
 - **Recherche d'antigènes viraux**
 - **Recherche de génomes viraux**
- **Diagnostic indirect**
 - **Recherches d'anticorps**
- **Combiner Direct et Indirect**
- **Vie quotidienne au laboratoire de virologie**

Diagnostic indirect – Recherche d’anticorps

1. Dépister une infection en cours

- ⇒ Face à une hépatite aiguë clinique : HAV, HEV, HBV
- ⇒ Face à infection d’une femme enceinte : Rubéole, CMV



2. Déterminer le statut sérologique d’une personne vis-à-vis d’une infection virale

- ⇒ Avant une vaccination : HAV
- ⇒ Avant un traitement immunosuppresseur (chimiothérapie, transplantation)
- ⇒ Lors de la prise en charge d’un patient infecté par le HIV

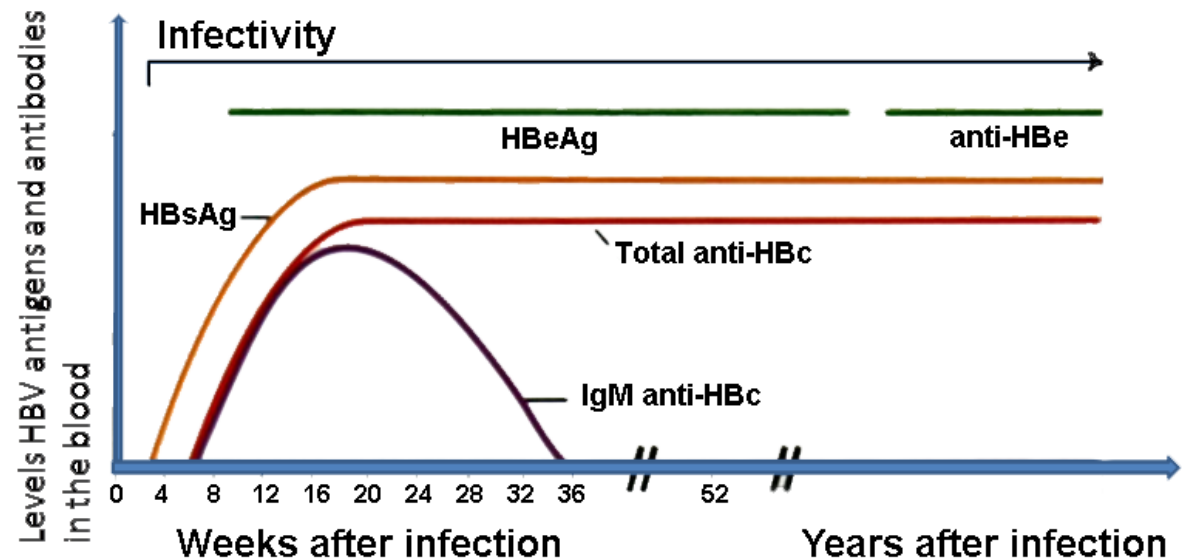
A partir d’un échantillon de sérum

- 1 seule recherche d’IgG suffit
- ELISA pour rechercher des Acs
- Western blot comme technique de confirmation pour HIV

Diagnostic indirect – Recherche d’anticorps

3. Dépister et suivre une infection chronique

- ⇒ HBV = mettre en évidence des séroconversions, signes de guérisons
- ⇒ A partir d’un échantillon de sérum



Cinétique des anticorps au cours d’une infection par HBV

Diagnostic indirect – Recherche d’anticorps

Basé sur le principe de l’ELISA

Avantages

- Rapide, sensible, spécifique
- Peu coûteux
- Automatisé

Inconvénients

- Faux positifs/Faux négatifs



Diagnostic & suivi des infections virales - Plan

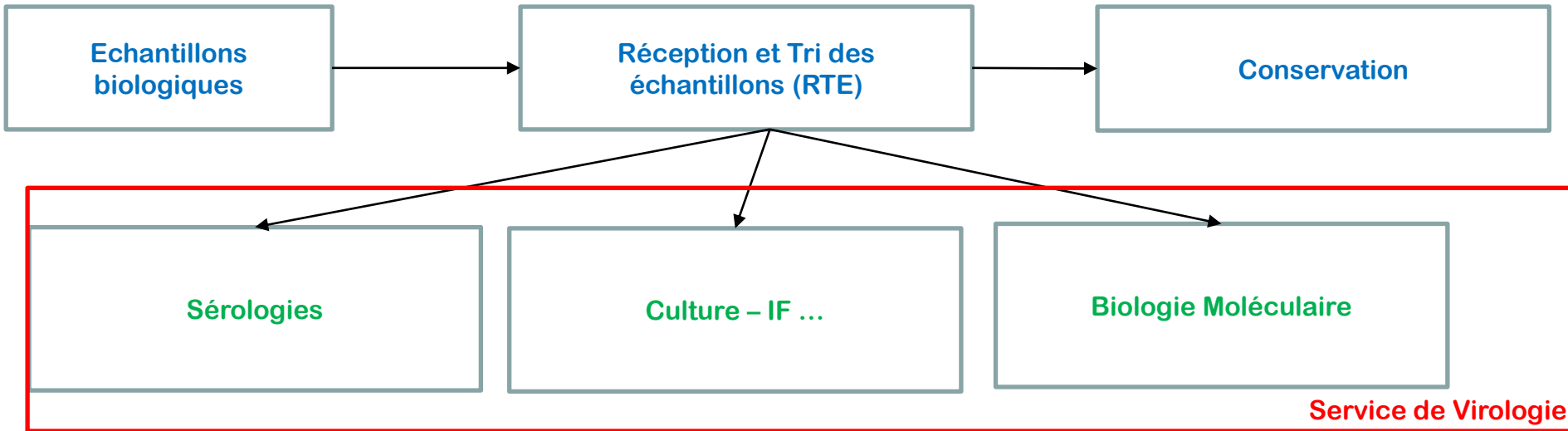
- **Prélèvements biologiques**
- **Principes du diagnostic Direct - Indirect**
- **Diagnostic direct**
 - **Isolement viral**
 - **Recherche d'antigènes viraux**
 - **Recherche de génomes viraux**
- **Diagnostic indirect**
 - **Recherches d'anticorps**
- **Vie quotidienne au laboratoire de virologie**

Vie quotidienne au laboratoire de virologie

Infection par le HIV

- Suivi de l'infection, éventuellement sous traitement, par quantification des ARN viraux dans le sang (RT-PCR)
- En cas d'échec du traitement, recherche de mutations de résistances par séquençage

Vie quotidienne au laboratoire de virologie



Vie quotidienne au laboratoire de virologie

Sérologies

- **J+1**
- **Séries**

Exceptions

- AES
- Dons organes
- Hépatites fulminantes

Culture – IF ...

- J0 – J+1
- Séries
- Coup par coup

Biologie Moléculaire

PCR

Typage
Mutations

- J0, J+1, 2, 3...
- Séries
- Coup par coup

Service de
Virologie

Diagnostic & suivi des infections virales

Avez-vous des Questions ?