

TD 5 : Méthodes de diagnostic des infections virales

Les infections virales constituent un enjeu majeur de santé publique en raison de la diversité des virus, de leur plasticité génétique et de leur capacité d'adaptation. Un diagnostic rapide et précis est essentiel pour orienter la prise en charge, définir les stratégies de surveillance épidémiologique et prévenir la propagation.

I. Méthodes de diagnostic

I.1. Approche directe : Cette approche vise à détecter le virus lui-même ou ses constituants (protéines, acides nucléiques, particules virales).

a. Microscopie électronique : Utilisée principalement pour l'observation morphologique de virus non cultivables (p. ex. rotavirus, poxvirus), cette technique repose sur la visualisation directe après dépôt de l'échantillon sur une grille métallique et coloration négative (acétate d'uranyle ou phosphotungstate). Elle permet une identification morphologique rapide, mais son usage est aujourd'hui restreint aux laboratoires spécialisés en raison de son coût élevé, de sa technicité et des alternatives moléculaires disponibles.

b. Culture cellulaire : La mise en culture permet la réplication du virus dans des lignées cellulaires appropriées. Les effets cytopathiques observés au microscope (lyse, syncytium, inclusions...) orientent le diagnostic. Certaines cultures *in vivo* (œufs embryonnés, modèles animaux) sont encore employées pour des virus comme l'influenza. Cependant, la culture est lente et nécessite des conditions strictes de sécurité biologique (BSL-2 ou BSL-3 selon le pathogène), ce qui limite son utilisation en routine clinique.

c. Détection d'antigènes viraux : Ces méthodes rapides identifient des protéines virales spécifiques à partir de prélèvements cliniques. Les techniques courantes incluent :

- L'immunochromatographie (tests rapides ou « lateral flow »), comme pour le SARS-CoV-2 ou l'influenza.
 - L'ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).
 - L'immunofluorescence directe sur frottis cellulaires.
 - Le Western blot pour la confirmation d'un diagnostic sérologique.
- Ces méthodes sont simples et adaptées au diagnostic de première intention, bien que leur sensibilité soit généralement inférieure à celle de la PCR.

d. Détection des acides nucléiques viraux : L'approche moléculaire est aujourd'hui la référence en virologie clinique. La PCR, et ses variantes modernes (RT-PCR pour les virus à ARN, qPCR quantitatives, PCR multiplex et digital PCR), permettent la détection rapide et spécifique de séquences virales. La PCR en temps réel (qPCR) est devenue la norme, notamment illustrée par son utilisation durant la pandémie de COVID-19. Les tests isothermes (comme LAMP) et les systèmes de diagnostic automatisés (GeneXpert™, ID Now™, etc.) offrent une alternative rapide au laboratoire. Enfin, les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) permettent aujourd'hui l'identification et la caractérisation complète de nouveaux virus.

I.2. Approche indirecte : diagnostic sérologique : Cette approche détecte la réponse immunitaire de l'hôte à l'infection, principalement à travers la recherche d'anticorps spécifiques dans le sérum.

a. Recherche des anticorps : IgM et les IgG :

- Les IgM apparaissent précocement et indiquent une infection récente ou aiguë.
- Les IgG apparaissent plus tard et persistent, témoignant d'une infection ancienne ou d'une immunité post-infectieuse ou vaccinale.

La distinction entre infection récente et ancienne peut être précisée par le test d'avidité des IgG.

Les principales techniques utilisées sont :

- L'ELISA, méthode standard pour la détection et le titrage.
- Les tests d'agglutination et d'immunofluorescence.
- Le Western blot, souvent utilisé comme test de confirmation (ex. diagnostic du VIH).

b. Titrage des anticorps : Il consiste en la mesure de la concentration d'anticorps dans une série de dilutions sériques. Le titre correspond à la plus grande dilution donnant une réaction positive. Une augmentation d'un facteur ≥ 4 entre deux prélèvements effectués à 15–21 jours d'intervalle signe une infection récente ou active.

II. Évolutions récentes et perspectives

- Intégration de la bioinformatique pour l'analyse des séquences virales.
- Utilisation de nanotechnologies et de biosenseurs portatifs pour le dépistage in situ.
- Développement des plateformes multiplex capables de détecter simultanément plusieurs virus respiratoires, entériques ou hépatiques.