

GINGIVO-STOMATITES HERPETIQUES:

Quels prélèvements et quelles techniques?

Dr C. ZANDOTTI

Laboratoire de Virologie du Pr D. Raoult

CHU Timone, Marseille.

Virus herpes simplex (HSV)

- Virus strictement humain, 2 types 1 et 2
- Porte d'entrée
 - Peau, muqueuse
 - HSV1: buccale
 - HSV2: génitale

Latence

- Neurones des ganglions sensitifs
 - HSV1: ganglion de Gasser
 - HSV2: ganglions sacrés

Réactivation et récurrence

Symptomatologie de l'infection HSV1

- *Primo-infection HSV1*

- 80-85% inapparente
- 15-20% gingivostomatite vésicules ulcérées + ADP + fièvre

- *Infections récurrentes HSV1*

- Bouquet de vésicules
- Excrétion du virus dans la salive: contagiosité++

Gingivostomatite herpétique



Herpes labial récurrent



Les prélèvements en Virologie

Généralités (GBEA)

- Le préleveur doit être identifié
- Respect des précautions standard
- Étiquetage des prélèvements (identité du patient, nature, date, heure)
- Fiche de renseignement (identité, nature et site, prescripteur, signes cliniques)
- Récipient transporté dans sac en plastique étanche et fermé, avec compartiment séparé pour les documents

Quels prélèvements?

- Cutanéomuqueux: écouvillon, frottis
- Prélèvement sanguin
- Prélèvements respiratoires: crachats, LBA
- Biopsies d'organes: pulmonaire, hépatique, cutanée
- Urines
- Liquide céphalorachidien

Vésicules et ulcérations cutanéomuqueuses

- Prélèvement le plus précoce possible
- Aspiration des vésicules à la seringue ou raclage du plancher et de la périphérie des lésions avec écouvillon, mis dans un milieu de transport spécifique (Virocult^o)
- Frottis sur lame pour IF
- Délai de transport rapide pour la culture (<4h t° ambiante, 36h à 4°C)

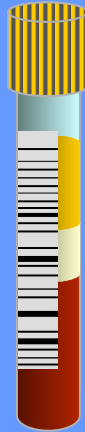
Virocult



Prélèvements sanguins

- Pour recherche de génomes viraux:
 - Tube EDTA
 - Transport <6h
- Pour sérologie:
 - Tube sec +/- gélosé
 - Conservation 24 à 48h à 4°C

Serum



Tube sec avec
séparateur
(géluse)

Bouchon jaune



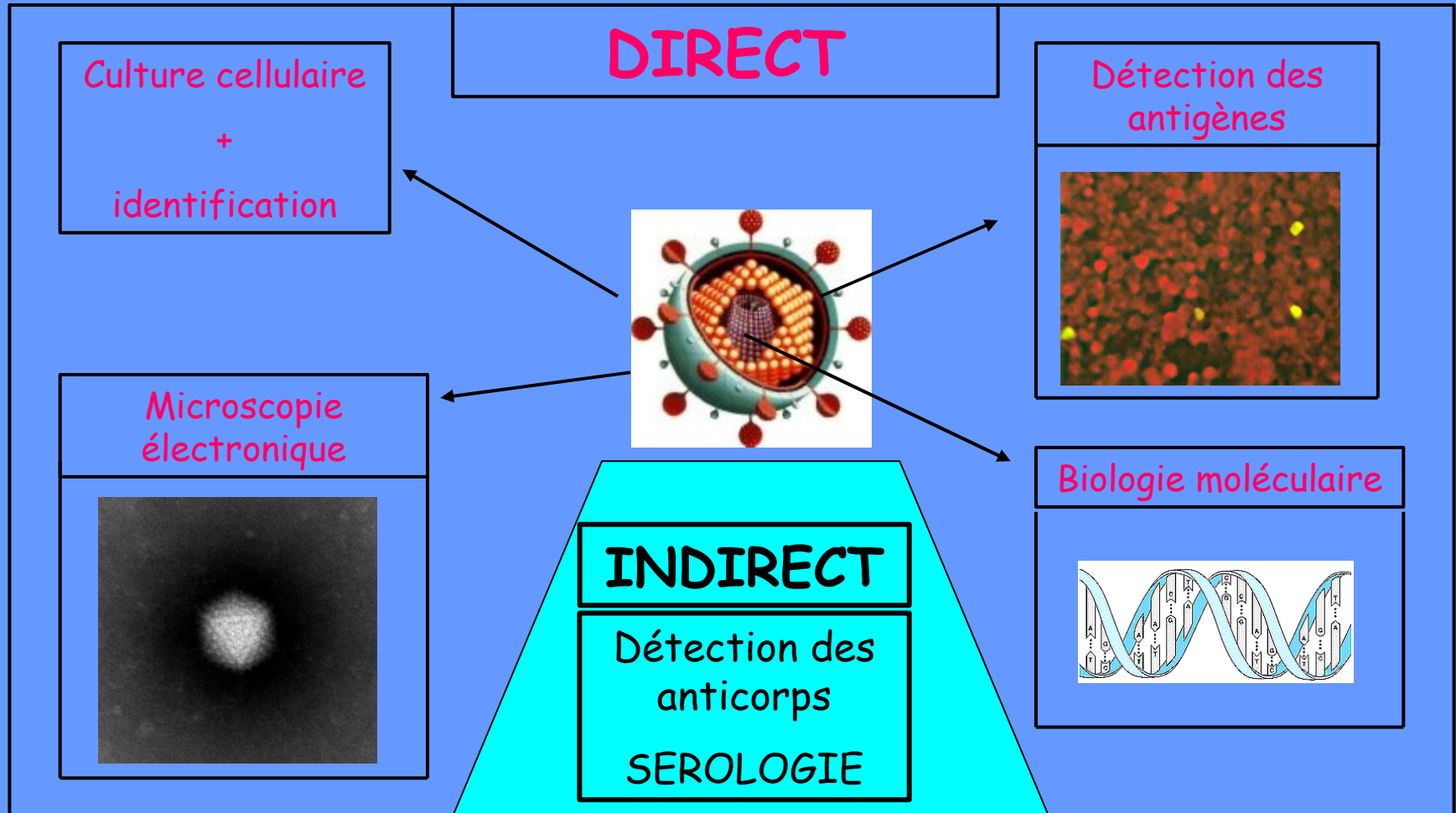
Tube sec sans
séparateur

Bouchon rouge

Les techniques virologiques

- Diagnostic direct
 - Mise en évidence du virus ou de ses constituants
- Diagnostic indirect ou sérologie
 - Détection des anticorps produits en réponse à l'infection virale

Diagnostic direct et indirect



Isolement en culture cellulaire

- Virus = parasite intra-cellulaire strict
- Cultivable uniquement en cellules vivantes:
 - Animaux
 - Œuf de poule embryonné
 - Cellules en culture+++
- Au laboratoire de virologie:
 - 4 systèmes cellulaires, 14 j de culture
 - Effet cytopathogène
 - Identification avec AC monoclonaux spécifiques

Avantages/inconvénients des cultures cellulaires

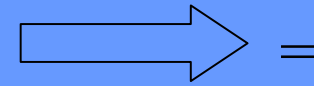
- Sensible pour virus cultivables
- Diagnostic non orienté
- Nouveaux virus
- Études épidémio
- Phénotypes de sensibilité aux antiviraux
- Long
- Difficile
- Cher
- Pour virus cultivables

Culture de HSV sur cellules MRC-5

Culture cellulaire
MRC5

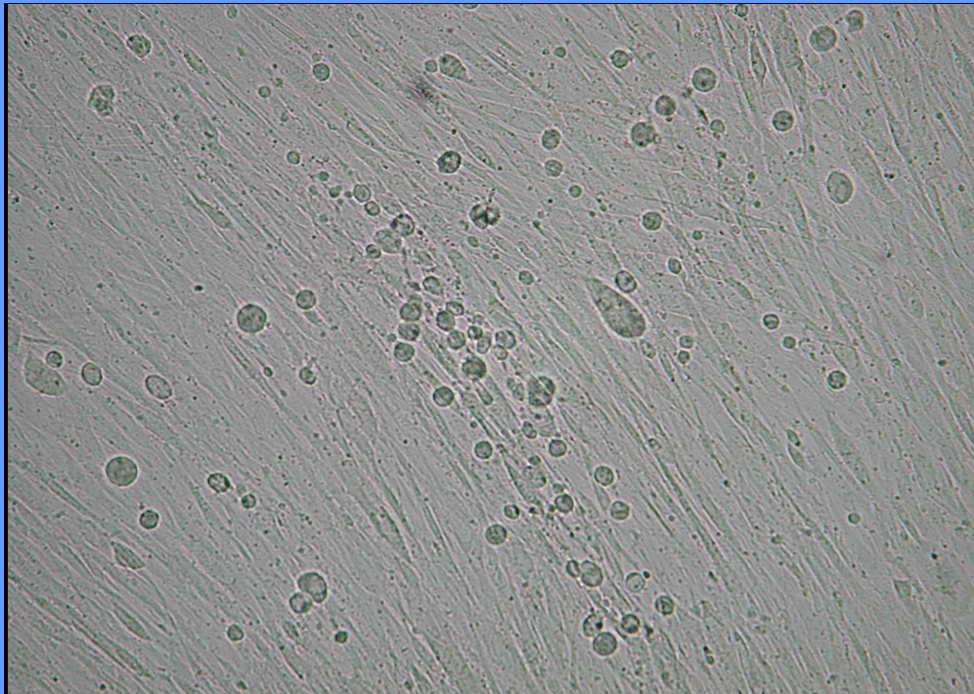
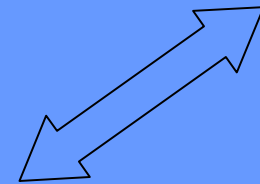
+

Prélèvement
infecté par HSV

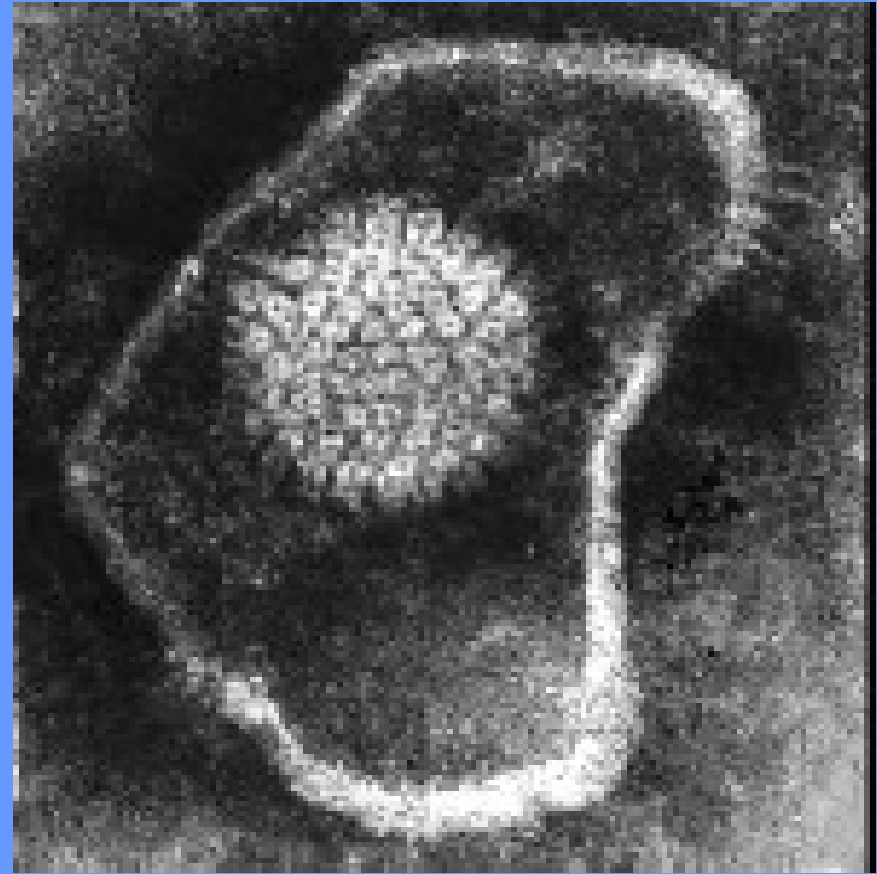
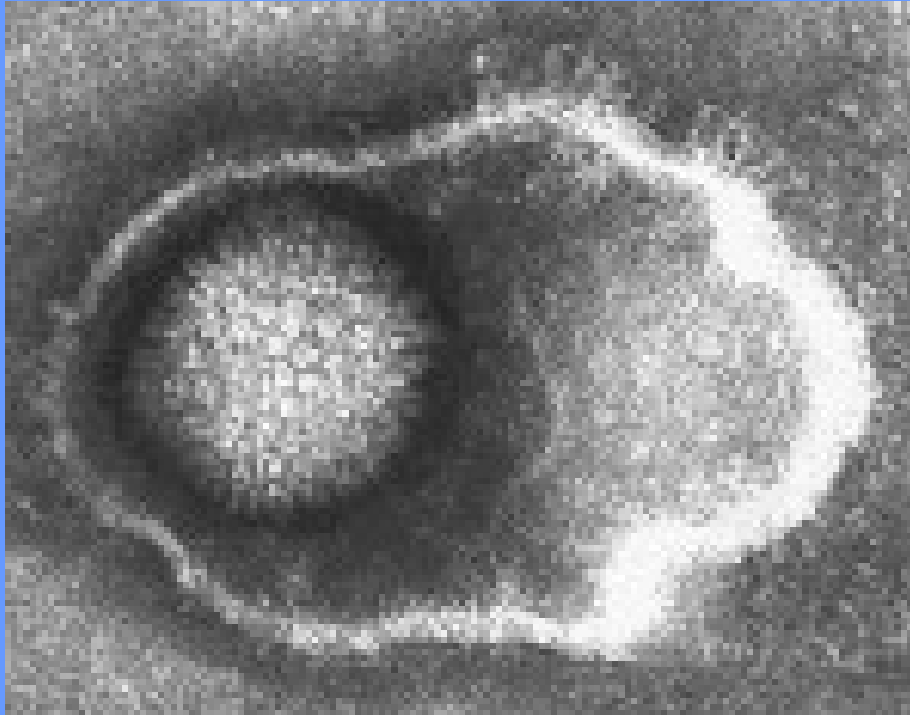


Déformation
cellules MRC5

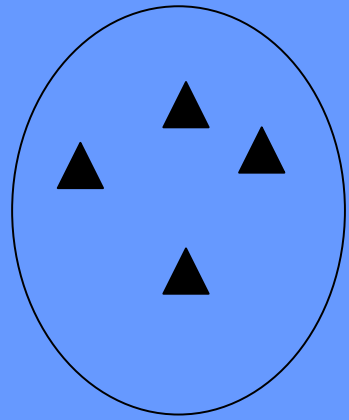
Effet
Cyto - Pathogène



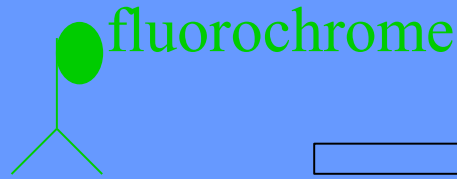
Herpesviridae en Microscopie électronique



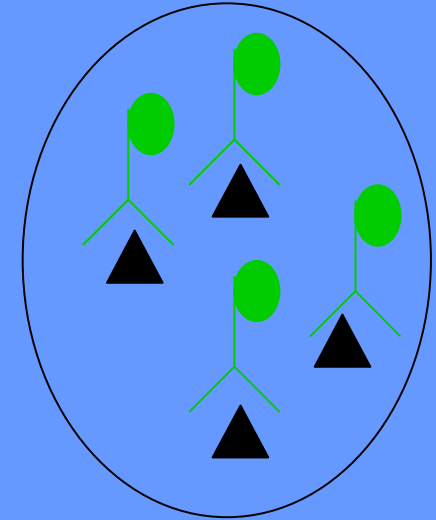
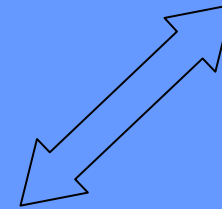
HSV : IFD sur prélèvement cutané (lame)



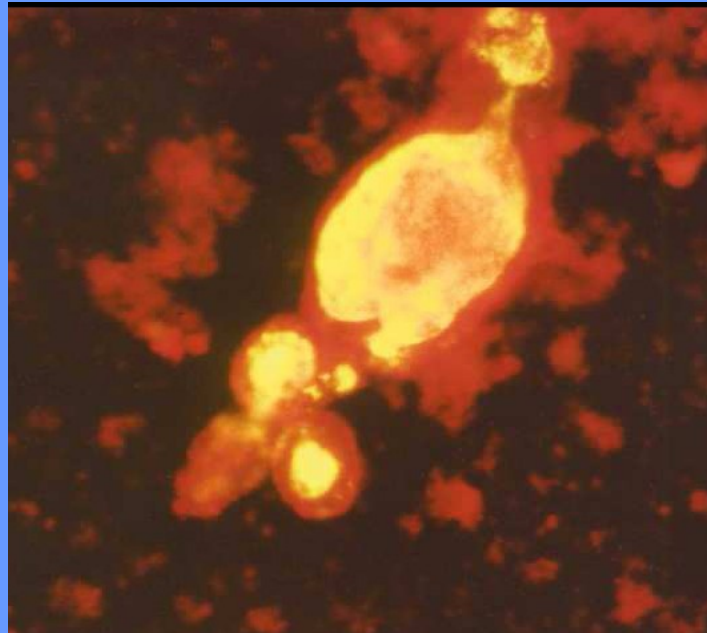
+



Anticorps
anti-HSV1 ou 2
marqué



Cellule
contenant
le virus
HSV1

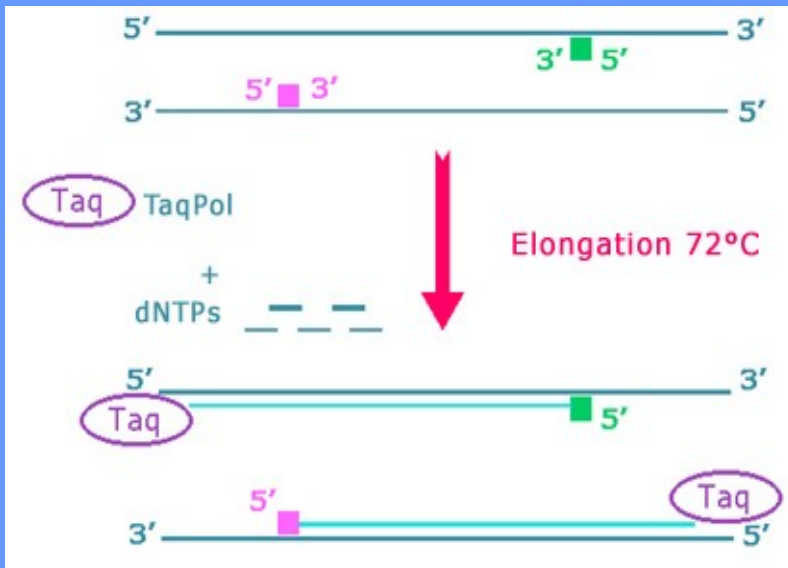


Détection des génomes viraux

- Hybridation avec sonde/puces à ADN
- Amplification de séquences nucléiques par PCR
- Séquençage
 - Typage moléculaire (HIV, HCV, HPV)
 - Résistance génotypique aux anti-rétroviraux

Technique de PCR en temps réel

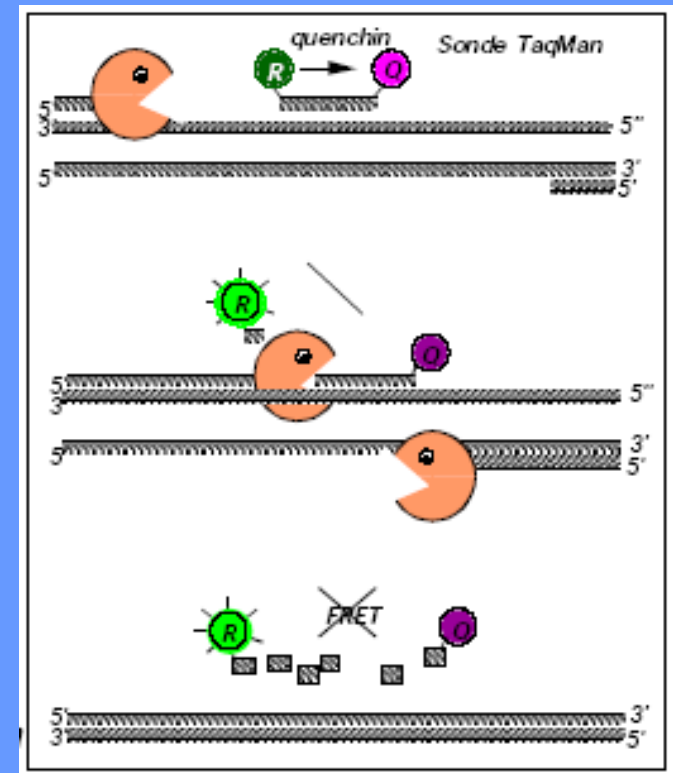
PCR CLASSIQUE



Révélation

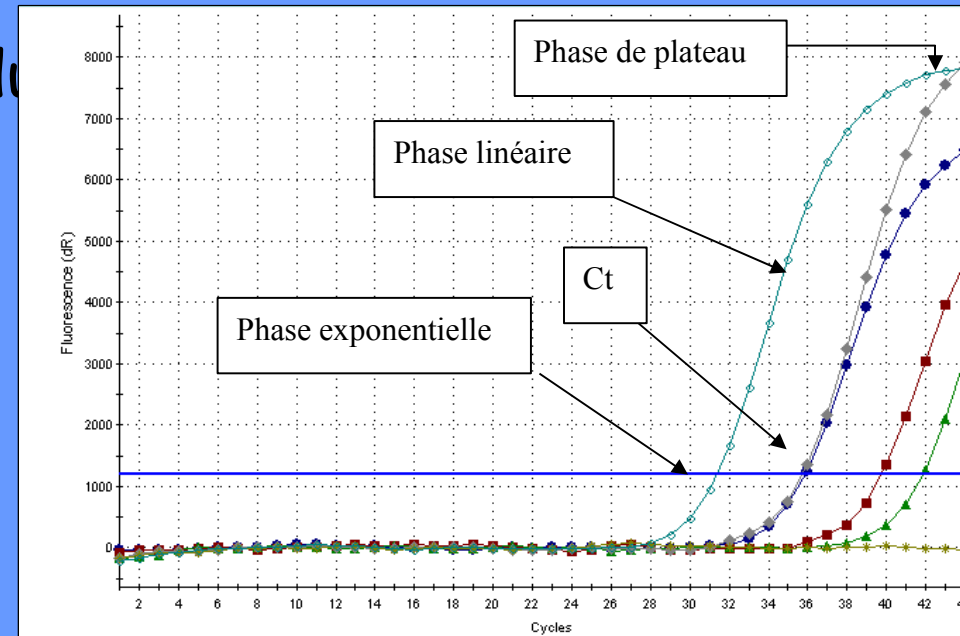
PCR EN TEMPS REEL

→ Sondes d'hydrolyse



Technique de PCR en temps réel

- ✓ Sensibilité, spécificité
- ✓ Mesure en continu des produits
- ✓ Automatisable
- ✓ Réduction contaminations
- ✓ rapide
- ✓ Quantitative



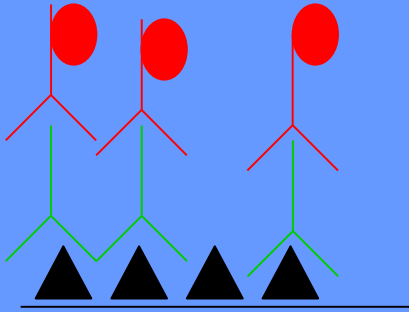
Avantages/inconvénients des techniques de PCR

- Sensible
- Spécifique
- Rapide
- Applicable à tout virus
- Faux positifs par contamination
 - sectorisation
- Faux négatifs
 - Inhibiteurs
 - Variabilité génétique

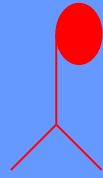
Sérologie virale

- Détection des anticorps spécifiques
- Détection séparée des IgG/IgM/IgA
- Indications:
 - diagnostic d'infection actuelle
 - diagnostic d'immunité ancienne
 - évaluation d'une vaccination
 - dépistage légal dans le cadre de la sécurité virale

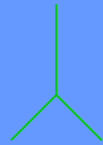
- **Technique immunofluorescence**



Fixé sur sur lame: antigène viral ou culture cellulaire infectée par du virus



Anticorps anti-IgM ou anti-IgG humain marqué par un fluorochrome



Sérum du patient contenant l'anticorps spécifique

• **Technique immuno-enzymatique: ELISA**

- Même principe (plaque) → grandes séries d'analyse+++
- Antigène fixé sur support solide
- Anticorps anti-IgM ou anti-IgG humain marqué par un enzyme: ajout d'un substrat → coloration

Interprétation

- Augmentation significative du taux des AC sur 2 sérums successifs
- Présence d'IgM spécifiques
 - Primo-infection
 - Parfois dans les réactivations
 - Faux positifs par réactions croisées

Attention aux faux négatifs: séro trop précoce

CONCLUSION

- Importance de la qualité des prélèvements et de leur acheminement
- Importance des renseignements cliniques:
 - Choix de la technique la plus appropriée
 - Interprétation des résultats