

## **Evolution des techniques de virologie**

Pr Bruno LINA, *CNR des virus influenza Région sud, Lyon*

Depuis la première mise en évidence du virus influenza en 1936, les techniques virologiques ont subi plusieurs révolutions.

La mise en culture des virus, d'abord réalisée sur œufs embryonnés de poule, est maintenant réalisée sur lignées cellulaires. Le rendement n'est pas forcément supérieur, mais il s'agit d'une technique nettement plus facile à mettre en œuvre, et donc plus adaptée.

La seconde révolution a été la découverte des anticorps monoclonaux durant le début des années 1970. Grâce à ces anticorps, il a été possible de mettre en place les techniques de détection antigéniques comme l'immunofluorescence, puis l'ELISA. Ces techniques sont actuellement toujours utilisées car elles permettent un diagnostic rapide, spécifique et bon marché, avec une sensibilité correcte.

La troisième révolution a été la découverte des méthodes moléculaires, et en particulier de la PCR (ou RT-PCR). Ces techniques, découvertes au milieu des années 1980, ont permis à la virologie d'une manière générale de prendre un véritable essor. C'est grâce à la PCR que notre spécialité est entrée dans la biologie moderne. Ces outils moléculaires permettent de réaliser la détection de n'importe quel pathogène déjà caractérisé, avec une sensibilité qui n'est égalée par aucune autre technique. Il s'agit d'une évolution majeure puisque certains laboratoires de virologie se sont progressivement transformés en laboratoires de biologie moléculaire qui ne font plus que de la PCR.

Faut-il mettre les autres techniques à la poubelle ?

Certains disent ouvertement que oui. Toutefois, pour le problème précis de la surveillance de la grippe, les laboratoires de référence comme le nôtre ne peuvent se contenter de faire la détection des virus par RT-PCR. Il est nécessaire de réaliser la culture des échantillons biologiques afin de faire pousser le virus pour pouvoir l'identifier complètement. La PCR ne permet pas de faire la caractérisation complète du virus, il faut l'avoir en culture pour identifier les variants. De même, en l'absence de culture, il est impossible de faire une identification correcte d'un nouveau virus (A H5N1, A H7N7, etc...).

Dans un futur proche, il est certain que le mode de fonctionnement des laboratoires de virologie va continuer à évoluer. Le diagnostic moléculaire va progressivement remplacer la détection antigénique et ces nouvelles méthodes permettront de quantifier le pathogène dans le prélèvement. De plus, les détections couplées de plusieurs pathogènes (multiplex), réalisées en même temps au cours de la même réaction, sont possibles, ceci à peine quelques heures après avoir reçu l'échantillon. Objectivement, il est fort probable que dans 3 à 5 ans, les laboratoires comme le nôtre vous donneront des réponses encore plus rapides (en 24h), encore plus complètes (10 pathogènes respiratoires), tout en maintenant leur fonction de centre de référence (mise en culture des virus influenza). Contrairement à ce que certains peuvent encore penser ou dire, faire imprimer aux laboratoires de virologie un virage « moléculaire » est une évolution inéluctable et indispensable. Il ne s'agit pas de vendre son âme au diable, mais d'utiliser les outils modernes pour faire de la virologie moderne, c'est-à-dire en temps réel.