

TECHNIQUES DE
LABORATOIRE
EN
VIROLOGIE
HUMAINE

par

P. LÉPINE

M
C
G

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|-------------------|---|
| PRÉFACE | V |
|-------------------|---|

PREMIÈRE PARTIE

MÉTHODES ET TECHNIQUES

| | |
|--|----|
| CHAPITRE PREMIER. — <i>Prélèvements biologiques pour le diagnostic des maladies à virus</i> , par J. MAURIN | 3 |
| Prélèvements destinés à la sérologie | 5 |
| Prélèvements destinés à l'isolement des virus | 6 |
| Acheminement, réception, conservation | 13 |
| CHAPITRE II. — <i>Conservation des souches</i> , par P. LÉPINE | 17 |
| Passages sur animaux sensibles | 17 |
| Animaux réservoirs | 18 |
| Lyophilisation | 21 |
| CHAPITRE III. — <i>Animaux de laboratoire</i> , par P. LÉPINE | 26 |
| Animalerie | 26 |
| Élevage | 28 |
| Souris blanche | 28 |
| Sigmodon | 30 |
| Mérion | 32 |
| Hamster | 33 |
| Gerbille | 37 |
| Singes | 37 |
| Espèces utilisées | 38 |
| Clé de détermination des genres | 39 |
| Identification des babouins | 42 |
| Stabulation et nourriture | 45 |
| Inoculations et prélèvements | 46 |
| Chez le singe | 47 |
| Chez les petits rongeurs | 52 |
| Prélèvement de l'encéphale | 54 |
| Ponction cardiaque (petits animaux) | 57 |
| Contention de la souris | 59 |
| CHAPITRE IV. — <i>Isolement et culture des virus dans l'œuf embryonné de poulet</i> , par M ^{lle} G. CATEIGNE | 62 |
| Embryon, son développement | 63 |
| Matériel | 71 |
| Méthodes d'inoculation | 73 |
| Prélèvements | 82 |
| Application aux virus | 88 |

| | |
|---|---------------|
| CHAPITRE V. — <i>Culture des virus en culture de tissus</i> , par P. LÉPINE. | 93 |
| Matériel et équipement | 95 |
| Verrerie, bouchage et lavage | 95 |
| Instruments, appareils. | 98 |
| Milieux de culture. | 99 |
| Qualité de l'eau. | 101 |
| Principaux milieux | 102 |
| Sérums. | 103 |
| Cellules et tissus | 105 |
| De première explantation | 106 |
| En lignée continue | 112 |
| Mise en culture. | 116 |
| Trypsination | 117, 133, 139 |
| Tubes roulants, tubes à lamelles | 124, 127 |
| Méthodes des plages | 126, 141 |
| Cellules diploïdes | 142 |
| Annexe. | 128 |
| Composition et préparation des milieux, techniques. | 128 |
| CHAPITRE VI. — <i>Épreuves de titrage et d'identification d'un virus</i> , par P. LÉPINE | 147 |
| Sérum neutralisant | 148 |
| Identification par l'épreuve de neutralisation. | 153 |
| Emploi des cultures de tissus. | 158 |
| Titrage par la méthode cinétique de neutralisation. | 159 |
| Interprétation statistique des résultats. | 164 |
| CHAPITRE VII. — <i>La déviation du complément</i> , par A. EYQUÈM et P. LÉPINE | 175 |
| Principes généraux | 175 |
| Les antigènes. | 177 |
| Préparation, extraction. | 177, 185 |
| Antigènes solubles et antigènes viraux. | 183 |
| Stérilisation. | 189 |
| Sérums de référence. | 190 |
| Pouvoir anticomplémentaire | 192 |
| Techniques, fixation, déviation | 194 |
| Techniques de l'Institut Pasteur | 198 |
| Évolution des anticorps fixant le complément | 200 |
| Conglutination | 202 |
| CHAPITRE VIII. — <i>Les réactions de précipitation et d'agglutination passive</i> , par A. EYQUEM | 205 |
| Floculation en tube | 205 |
| Précipitation en milieu gélifié. | 206 |
| Microtechnique de précipitation. | 206 |
| Agglutination. | 208 |
| CHAPITRE IX. — <i>L'hémagglutination et ses applications pratiques</i> , par C. HANNOUN | 212 |
| Grippe et Myxovirus. | 213 |
| Inhibition, inhibiteurs | 215 |
| Diagnostic de la grippe, technique O.M.S.. | 219 |
| | 223 |
| Rougeole. | 223 |
| Groupe variole | 223 |
| Entérovirus. | 224 |
| Arbovirus | 227 |
| Adénovirus | 230 |
| Psittacose. | 232 |
| Hémadsorption | 233 |

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE X. — *Méthodes de coloration des frottis et des coupes*, par P. LÉPIN

| | |
|--|--|
| Exécution des frottis | |
| Coloration des frottis | |
| Technique histologique | |
| Coloration des coupes, mise en évidence des inclusions | |
| Coloration des corps de Negri | |

CHAPITRE XI. — *L'immunofluorescence. — Application des anticorps fluorescents à la virologie*, par P. ATANASIU

| | |
|---|--|
| L'immunité humorale | |
| La fluorescence | |
| La méthode de Coons | |
| La microscopie à fluorescence | |
| Méthodes directe et indirecte | |
| Application à quelques virus | |

CHAPITRE XII. — *La microscopie électronique*, par M^{lle} O. CROISSANT et P. LÉPIN

| | |
|--|--|
| Préparation du matériel | |
| Frottis | |
| Cultures | |
| Fixation et inclusion | |
| Techniques classiques | |
| Techniques diverses, fixateurs et milieux | |
| Ultramicrotomie | |
| Colorations | |
| Microscopie électronique-principes et méthodes | |

CHAPITRE XIII. — *Isolement des virus à partir des eaux*, par C. HANNOUN

| | |
|---|--|
| Prélèvements, méthodes des gazes | |
| Méthodes de concentration des virus | |
| Inoculation des virus | |
| Évaluation des résultats | |

DEUXIÈME PARTIE

VIROSES ET RICKETTSIOSES HUMAINES

CHAPITRE XIV. — *La Rage*, par P. LÉPINE

| | |
|---|--|
| État actuel du problème | |
| Conduite à tenir | |
| Personnes mordues (diagnostic d'urgence) | |
| Pas de personnes mordues (identification du virus) | |
| Animaux de laboratoire, inoculation et symptômes | |
| Autopsie des animaux rabiques | |
| Anatomo-pathologie microscopique | |
| Recherche des corps de Negri dans les frottis et coupes | |
| Recherche des corps de Negri par fluorescence | |
| Méthodes sérologiques | |
| Déviation du complément | |
| Anticorps fluorescents | |
| Immuno-précipitation | |
| Isolement du virus en culture de tissus | |
| Contrôle du vaccin | |

| | |
|---|----------|
| CHAPITRE XV. — <i>L'Herpès</i> , par J. DE RUDDER. | 343 |
| Pathologie, généralités. | 343 |
| Morphologie, acide nucléique. | 344 |
| Cultures, isolement. | 345 |
| Effet cytopathogène. | 349 |
| Séronéutralisation. | 353, 366 |
| Titration. | 354 |
| Cultures <i>in ovo</i> | 357, 368 |
| Cultures <i>in vivo</i> | 358, 368 |
| Diagnostic par immunofluorescence. | 360 |
| Par le microscope électronique. | 361 |
| Par les techniques sérologiques. | 364 |
| Purification du virus. | 370 |
| CHAPITRE XVI. — <i>Encéphalites et méningo-encéphalites</i> , par P. LÉPINE. | 380 |
| Encéphalites para-infectieuses. | 381 |
| Encéphalites virales primitives. | 382 |
| CHAPITRE XVII. — <i>Virus transmis par les arthropodes (Virus Arbor ou Arbovirus)</i> , par C. HANNOUN. | 385 |
| Méthodes d'isolement. | 386 |
| Identification. | 391 |
| Hémagglutination. | 394 |
| Inhibition de l'hémagglutination. | 403 |
| Fixation du complément. | 407 |
| Séronéutralisation. | 410 |
| Sérums de référence (préparation). | 417 |
| Enquêtes épidémiologiques. | 419 |
| Classification de Casals. | 421 |
| CHAPITRE XVIII. — <i>Virus de la Fièvre Jaune</i> , par P. LÉPINE et C. HANNOUN. | 426 |
| Diagnostic chez l'homme. | 426 |
| Méthodes sérologiques. | 427 |
| Méthode standard de protection de la souris. | 428 |
| Anatomo-pathologie. | 432 |
| Enquêtes épidémiologiques. | 434 |
| Fièvre jaune expérimentale. | 436 |
| Anatomo-pathologie (singe, souris). | 440 |
| CHAPITRE XIX. — <i>Virus de la Dengue</i> , par C. HANNOUN. | 443 |
| Identification, types, sérologie. | 443 |
| Symptomatologie. | 445 |
| CHAPITRE XX. — <i>La Chorio-méningite lymphocytaire</i> , par M ^{me} J. VIRAT. | 447 |
| Méthodes d'isolement. | 447 |
| Identification. | 454 |
| Diagnostic sérologique. | 456 |
| Préparation d'antigènes. | 458 |
| CHAPITRE XXI. — <i>La Poliomyélite</i> , par P. LÉPINE et J. MAURIN. | 463 |
| Historique. | 463 |
| Aspect au microscope électronique. | 464 |
| Méthodes diagnostiques directes. | 469 |
| Isolement. | 469 |
| Traitement des fèces. | 472 |
| Préparation des sérums. | 477 |
| Diagnostic d'urgence. | 481 |

| | |
|--|-----|
| Méthodes diagnostiques indirectes. | 482 |
| Déviation du complément. | 482 |
| Séro-neutralisation. | 489 |
| Technique cinétique. | 496 |
| Précipitation en milieu gélifié. | 498 |
| Méthodes épidémiologiques. | 500 |
| Inoculation aux animaux. | 501 |
| Lésions histo-pathologiques. | 504 |
| Facteurs d'identification <i>in vitro</i> | 508 |
| | |
| CHAPITRE XXII. — <i>Les entérovirus non poliomyélitiques</i> , par J. MAURIN. | 516 |
| Virus Coxsackie. | 517 |
| Pathologie. | 517 |
| Isolement du virus <i>in vivo</i> | 519 |
| Isolement du virus <i>in vitro</i> | 526 |
| Infection mixte Coxsackie, poliomyélite. | 528 |
| Réactions sérologiques. | 528 |
| Déviation du complément. | 529 |
| Virus ÉCHO. | 530 |
| Pathologie. | 531 |
| Hémagglutination et inhibition. | 532 |
| Neutralisation. | 535 |
| Réactions sérologiques. | 536 |
| Réovirus. Isolement. | 537 |
| Isolements. Tableau récapitulatif. | 538 |
| | |
| CHAPITRE XXIII. — <i>La Grippe</i> , par P. LÉPINE et M ^{lle} G. CATEIGNE. | 541 |
| Prélèvements, expédition. | 541 |
| Isolement <i>in vivo</i> | 543 |
| Isolement <i>in ovo</i> | 545 |
| Isolement <i>in vitro</i> | 547 |
| Hémadsorption. | 551 |
| Méthodes sérologiques. | 552 |
| Souches. Typage. | 554 |
| Méthodes standard de diagnostic. | 557 |
| Préparation de sérums. | 558 |
| Inhibiteurs sériques. - RDE. | 560 |
| Déviation du complément. | 563 |
| Inhibition de l'hémagglutination. | 567 |
| Unité d'hémagglutination. | 569 |
| Méthode pour le virus C. | 573 |
| Immuno-fluorescence. | 575 |
| Diagnostic cytologique. | 578 |
| Examen au microscope électronique. | 579 |
| Purification, préparation des hématies formolées. | 582 |
| | |
| CHAPITRE XXIV. — <i>Les infections respiratoires d'origine virale</i> , par J. SAMAILLE. | 588 |
| Les agents pathogènes. | 588 |
| Les grands syndromes. | 591 |
| Adénovirus, données générales. | 593 |
| Isolement et identification. | 595 |
| Réactions sérologiques. | 604 |
| Myxovirus parainfluenzæ, données générales. | 606 |
| Isolement et identification. | 608 |
| Réactions sérologiques. | 609 |
| Virus syncytial respiratoire, données générales. | 611 |
| Isolement et identification. | 614 |
| Réactions sérologiques. | 614 |
| Rhinovirus. | 615 |

| | |
|---|------------|
| Pneumonie atypique primitive, historique | 616 |
| Isolement et identification | 618 |
| Réactions sérologiques | 619 |
| Diagnostic, tableau récapitulatif | 623 |
| CHAPITRE XXV. — Oreillons et infection ourlienne, par J. SAMAILLE. | 629 |
| Caractères du virus, pathologie | 629 |
| Isolement et identification <i>in ovo</i> et <i>in vitro</i> | 631 |
| Méthodes sérologiques | 634 |
| CHAPITRE XXVI. — La Mononucléose infectieuse, par A. EYQUEM. | 642 |
| Examens hématologiques | 643 |
| Réactions sérologiques | 646 |
| Réaction de Paul-Bunnell-Davidsohn | 646 |
| Réactions complémentaires | 649 |
| CHAPITRE XXVII. — Hépatites infectieuses, par P. LÉPINE. | 653 |
| L'Hépatite épidémique | 653 |
| Épidémiologie et mode de transmission | 654 |
| Caractères du virus | 657 |
| Essais de culture <i>in vitro</i> | 658 |
| Essais de transmission aux animaux | 661 |
| Méthodes diagnostiques | 662 |
| Examen histologique du foie par ponction-biopsie | 662 |
| Exploration fonctionnelle | 665 |
| Transaminases | 666 |
| Autres épreuves | 667 |
| Recherches sérologiques | 672 |
| Hépatite sérique homologue | 673 |
| CHAPITRE XXVIII. — La Rougeole, par J. DE RUDDER. | 681 |
| Diagnostic pratique | 681 |
| Caractères du virus (morphologie, classification) | 683 |
| Immunité croisée | 685 |
| Isolement en culture cellulaire | 689 |
| Effet cytopathogène | 694 |
| Culture <i>in ovo</i> | 699 |
| Adaptation aux animaux | 700 |
| Techniques sérologiques | 701 |
| Hémadsorption, séro-neutralisation | 701 |
| Hémagglutination | 705 |
| CHAPITRE XXIX. — La Rubéole, par J. DE RUDDER. | 712 |
| Isolement en culture cellulaire | 712 |
| Diagnostic sérologique | 715 |
| Examen microscopique | 716 |
| CHAPITRE XXX. — La Varicelle, par J. DE RUDDER. | 717 |
| Le virus Varicelle-Zona | 717 |
| Isolement en culture cellulaire | 717 |
| Diagnostic sérologique | 720 |
| Examen microscopique | 721 |
| CHAPITRE XXXI. — Variole. — Vaccine, par P. LÉPINE | 725 |
| Diagnostic différentiel. - Urgence | 725 |
| Prélèvements. Précisions pour l'expédition | 726 |

| | |
|--|-----|
| Isolement et cultures <i>in vivo</i> | 729 |
| Isolement et culture <i>in ovo</i> | 730 |
| Isolement et culture <i>in vitro</i> | 732 |
| Examen au microscope ordinaire | 734 |
| Examen au microscope électronique | 735 |
| Réactions sérologiques | 738 |
| Micro-réaction en gel | 740 |
| Inhibition de l'hémagglutination | 742 |
| Fixation du complément | 744 |
| Séro-neutralisation | 745 |
| | |
| CHAPITRE XXXII. — <i>Psittacose - Ornithose - Lymphogranulomatose</i> , par M ^{lle} J. ORFILA | 749 |
| Notions de pathologie humaine et animale | 749 |
| Lymphogranulomatose vénérienne | 750 |
| Isolement en culture <i>in vivo</i> | 751 |
| Sérologie | 754 |
| Psittacose-ornithose | 756 |
| Isolement en cultures <i>in vivo</i> | 757 |
| Sérologie | 760 |
| Déviation du complément | 761 |
| Diagnostic chez les oiseaux | 764 |
| | |
| CHAPITRE XXXIII. — <i>Trachome. Conjonctivite et Uréthrite à inclusions</i> , M ^{me} par J. DENIS-LASSALLE | 766 |
| Recherche du virus | 767 |
| Techniques des prélèvements | 769 |
| Coloration et examen des frottis | 771 |
| Immuno-fluorescence | 774 |
| Isolement et identification | 777 |
| Cultures <i>in ovo</i> | 777 |
| Inoculation à l'animal | 780 |
| Histopathologie | 782 |
| Techniques sérologiques. Fixation du complément | 783 |
| | |
| CHAPITRE XXXIV. — <i>La Lymphoréticulose bénigne d'inoculation</i> (Maladie des griffes de chat), par A. EYQUEM | 788 |
| Diagnostic différentiel | 790 |
| | |
| CHAPITRE XXXV. — <i>Diagnostic des rickettsioses humaines</i> , par P. GIROUD et M. CAPPONI | 792 |
| Les rickettsies pathogènes pour l'homme | 792 |
| Prélèvements | 795 |
| Cultures <i>in vivo</i> | 797 |
| Cultures <i>in ovo</i> | 800 |
| Identification. - Généralités | 801 |
| Tableau des animaux sensibles | 804 |
| Techniques sérologiques | 805 |
| | |
| <i>Index analytique</i> | 813 |