

## 4.1 Protection contre les virus étudié dans un tube (Seroneutralization)

Bienvenue à un nouveau bloc de vidéos de ce cours. Nous allons parler dans lequel le diagnostic de l'infection virale par le biais de la réponse immunitaire cette cause de virus dans l'hôte. Nous allons commencer à voir comment il évalue le rôle protecteur d'anticorps. Ce qui est fait à l'aide de tests de sérum neutralisation ou neutralisation virale.

Comme vous le savez, quand un virus infecte une cellule la reconnaissance doit avoir lieu entre le récepteur de la cellule et certaines molécules ou épitopes sur la surface du virus. Eh bien certains anticorps peuvent entourer ces molécules virales et de prévenir qu'ils sont reconnus par le récepteur. Ces anticorps sont appelés neutralisant et ils sont très importants parce qu'ils seront bloquent effectivement la progression de l'infection, donc ils sont protecteurs. Comme tous les anticorps, ils sont très spécifiques, et si les molécules virales varient, ils ne les reconnaissent et cesser d'avoir un effet protecteur.

Le test de neutralisation est considéré comme la technique qui correspond le mieux la corrélation in vivo et in vitro entre les virus et des anticorps. C'est une technique quantitative, donc nous allons faire des dilutions de l'échantillon de sérum et nous ajouterons une quantité constante de virus. Après incubation pour permettre l'antigène et l'anticorps à réagir, les mélanges sont ajoutés à un système sensible pour voir l'infectiosité résiduelle du virus. Les systèmes sensibles peuvent être des animaux de laboratoire, œufs avec embryon ou cellules de cultures, où les virus non neutralisé peut produire un effet reconnaissable, comme la mort, des blessures, effet cytopathique, hémagglutination, formation syncytiums, etc.

Il existe plusieurs façons de préparer des dilutions du sérum, mais ils diffèrent seulement dans les proportions. Ici, nous allons effectuer des dilutions sériées de double. Nous devons préparer une batterie de 10 tubes, à laquelle on ajoute 250 µl de milieu de culture. Puis nous ajoutons 250 µl de sérum dans le premier tube, bien mélanger et nous dépenser 250 µl du mélange dans le tube suivant, et ainsi de suite. Chaque fois que nous sommes allés d'un tube à la suivante nous diluer la quantité d'anticorps présents dans le sérum par moitié. Par exemple, dans le premier tube la dilution est 1:2, dans le prochain 1:4, dans le prochain 1:8, et donc tout le chemin au tube 10 où il sera 1:1024. Nous devons suivre la même procédure avec les sérums de contrôle positif et négatif. Ensuite, nous ajoutons 250 µl de la concentration appropriée de virus dans les 10 tubes (dilution à nouveau par la moitié de la quantité d'anticorps), nous secouer et incuber à 37°C pendant 60 minutes pour permettre à la possible présence d'anticorps dans le sérum neutralisants réagir avec les épitopes du virus qui sont reconnus par le récepteur cellulaire.

Comme je l'ai dit avant, neutralisation peut être observée chez les animaux de laboratoire, œufs ou culture de tissus. Ici, nous allons faire dans la culture de tissus. Nous transférons 100 µl de chaque mélange sérum-virus par quadruplé pour les puits d'une plaque 96 puits dans lequel nous avons cultivé des cellules sensibles au virus et nous laisser incuber des plaques 2 ou 3 jours ou le temps nécessaire pour observer l'effet cytopathogène avec le microscope. S'il y a des anticorps neutralisants dans le sérum Il n'y aura aucun effet. Bien sûr, Il faut comparer les résultats de sérum problème avec les contrôles positifs et négatifs.

Cette méthode quantitative nous permet de déterminer le titre des anticorps dits, dans le cas de neutralisation les titre des anticorps, qui est défini comme le dénominateur de la dilution la plus élevée dans lequel il y a neutralisation complète de l'effet cytopathique dans 50% des puits. Pour déterminer cela, nous appliquons une formule statistique. Ainsi, après avoir entré les données dans la formule le résultat indique combien devrait diluer le sérum d'obtenir une protection dans 50% des puits, animaux, ou des œufs, selon le système que nous avons utilisé.

Cette formule est très utile, et il est fréquemment utilisé pour déterminer la concentration de virus qui produit la mort ou une infection chez 50% des animaux (dose létale 50 ou infectieux dose 50, respectivement), dans 50% des puits (qui est le TCID 50), etc.

Comme vous pouvez le voir, la séroneutralisation ou neutralisation virale est une technique un peu laborieuse et plus lente que les techniques que nous allons voir dans la vidéo suivante, mais il est très spécifique et sensible et est considéré comme un test «gold standard» des titrages sérologiques.

Je vous remercie beaucoup pour votre attention.