

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE CONSTANTINE 3

Faculté de médecine

Département de Pharmacie



MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

Pour l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème

**INTÉRÊT DE LA CULTURE CELLULAIRE
DANS LE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE
DIRECT**

Réalisé et présenté par :

- ✓ Bouherid Anissa
- ✓ Lakat Maroua
- ✓ Bellir Ines
- ✓ Boudjefdjouf Zakia
Yasmine

Encadré par :

Pr. Allag Hamoudi

Membres de jury :

Mme. Besli N.el-houda

Mme. Zekri Salima

Année universitaire : 2021 /2022

TABLE DE MATIERE

TABLE DES ANNEXES	XII
TABLE DES FIGURES	XIII
TABLE DES TABLEAUX	VII
LISTE D'ABREVIATION	VII

INTRODUCTION	1
--------------------	---

CHAPITRE I: GÉNÉRALITÉS

1. Le virus	4
1.1 Définition du virus	4
1.2 Caractères fondamentaux d'un virus	4
1.3 La structure du virus	4
1.4 Classification des virus	6
1.5 Modalités de multiplication des virus	6
2 Diagnostique virologique	8
2.1 Définition de l'infection virale	8
2.2 Définition du diagnostic virologique	8
2.3 Historique du diagnostic virologique	8
2.4 Notions générales des différentes approches du diagnostic virologique	9
2.4.1 Maîtrise de l'échantillonnage (méthode de prélèvement)	9
2.4.2 Méthodes du diagnostic virologique	11
2.4.3 Pourquoi favoriser le diagnostic virologique direct	13

CHAPITRE II: ISOLEMENT DU VIRUS

1 Œufs de poule embryonnés	13
2 L'inoculation à l'animal	14

3	Culture cellulaire	15
3.1	Définition de la culture cellulaire	15
3.2	Historique de la culture cellulaire.....	15
3.3	Morphologie des cellules cultivables en culture cellulaire.....	17
3.4	Culture primaire	18
3.4.1	Obtention de cellules cultivables.....	19
3.5	Culture secondaire.....	20
3.6	Passage de cultures cellulaires	21
3.7	Lignées cellulaires.....	23
3.7.1	Définition de la lignée cellulaire	23
3.7.2	Critères de sélection des lignées cellulaires	25
3.7.3	Procédure de développement de lignées cellulaires.....	26
3.8	Type de cultures cellulaires	32
3.8.1	Les cultures cellulaires adhérentes	32
3.8.2	Les cultures cellulaires en suspension.....	34
3.8.3	Relation entre le type de culture et le type cellulaire	35
3.9	Milieux de culture.....	36
3.9.1	Milieux synthétiques de base	37
3.9.2	Milieux à teneur réduite en sérum.....	39
3.9.	Milieux synthétiques sans sérum.....	39
3.10	Les conditions de la culture cellulaire	41
3.10.1	Exigences globales pour la croissance de cultures cellulaires.....	41
3.11	Équipements d'un laboratoire de culture cellulaire	44
3.12	La Cryoconservation.....	50
3.12.1	Les objectifs de la cryoconservation.....	51
3.12.2	Les essentiels de la cryoconservation.....	51
3.12.3	Le principe de base de la cryoconservation	52
3.12.4	Les étapes de la cryoconservation	53

3.13	Les contaminants.....	56
3.13.1	Source de contamination.....	56
3.13.2	Les contaminants chimiques.....	56
3.13.3	Les contaminants biologiques.....	57
3.13.4	Solutions au contaminant.....	58
3.14	Principe de l'isolement sur culture cellulaire.....	59
3.14.1	Inoculation du virus dans les cultures cellulaires:	59
3.14.2	Observation de l'effet cytopathogene	60
3.14.3	Titrage de virus en culture cellulaire	65
3.15	Examens complémentaires à la culture cellulaire	67

CHAPITRE III: AUTRES METHODES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE DIRECT

1	Detection d'antigène	73
1.1	La méthode ELISA	73
1.1.1	ELISA « en sandwich »	73
1.1.2	ELISA compétitive.....	74
1.2	L'immunofluorescence.....	75
1.2.1	Principes de l'IF.....	75
1.3	Les tests de diagnostic rapide (TDR)	76
1.4	L'immunodiffusion	77
1.5	Test d'agglutination	78
1.5.1	Principe du test d'agglutination.....	78
1.5.2	Protocole	79
2	Dètecion du gèneome.....	79
2.1	Amplification génique (PCR).....	79
2.1.1	PCR classique	79
2.1.2	PCR multiplexes	81

2.1.3 RT-PCR.....	81
2.1.4 PCR compétitive	81
2.2 L'hybridation moléculaire.....	82
2.3 Séquençage du génome viral	82
3 Comparaison entre les 3 approches au diagnostic direct	83

CHAPITRE IV: EXEMPLES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

1 Virus de la poliomyélite	86
1.1 Définition.....	86
1.2 Symptomatologie de la Poliomyélite.....	86
1.3 Méthodes de diagnostic de la poliomyélite	87
1.4 Traitement	88
2 Virus du Zona	88
2.1 Définition	88
2.2 Structure du virus varicelle zona	89
2.3 Symptômes.....	89
2.4 Diagnostic du zona.....	90
2.5 Traitement	91
3 Virus de l'influenza	91
3.1 Définition	91
3.2 Symptômes de l'influenza.....	92
3.3 Diagnostic virologique	93
3.3.1 Prélèvement:	93
3.3.Méthodes du diagnostic virologique.....	93
3.4 Traitement	98
4 Le SARS-CoV-2	99
4.1 Définition	99
4.2 Symptômes.....	100

4.3	Sources de contamination.....	101
4.4	Prélèvement	101
4.5	Diagnostic virologique	102
4.5.1	Le diagnostic direct	102
4.6	La stratégie de diagnostic suivie actuellement	104
4.7	Intérêt du diagnostic virologique du SARS-Cov2.....	104
4.8	Que faire si une personne présente un tableau clinique orientant vers une contamination au SARS-CoV-2 ?	104
	Conclusion	106
	Bibliographie	106



Les noms : Bellir Ines, Boudjefdjouf Zakia Yamsine,
Bouherid Anissa et Lakat Maroua



Titre : Intérêt de la culture cellulaire dans le diagnostic
virologique direct

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de docteur en Pharmacie

Résumé

La culture cellulaire est un procédé par lequel les cellules se reproduisent en dehors de leur milieu naturel, c'est à dire in-vitro dans des conditions idéales à leur culture. Cette méthode a vite fait d'être utilisée dans le diagnostic virologique depuis le début des années 50 et s'est imposée comme étant la méthode de référence. La culture cellulaire a prouvé son importance quant à la conservation de précieuses souches virales et à la production de vaccins, mais a aussi prouvé son importance dans le monde médical (recherches cliniques).

Le but de ce travail est de déterminer l'importance de la culture cellulaire s'aidant de la consultations de 67 de documents ainsi que d'une participation à un stage d'imprégnation au Centre de Recherche de Biotechnologie (Constantine). Ce mémoire traite de tous les nécessaires à la culture des cellules : des lignées cellulaires utilisées, de la méthode de leur ensemencement et culture, à leur conservation; tout en passant par les milieux de culture, leurs contaminants et le matériel nécessaire à cette méticuleuse activité.

Le but de ce travail est aussi de mettre en évidence les innombrables qualités de la culture cellulaire dans le diagnostic virologique à travers quatre chapitres, tout en passant par les notions de base du virus, de sa composition et de son mode de répllication. L'énumération des diagnostics de confirmation dans l'ordre le plus adéquat est aussi mentionnée, ainsi que les explications de leurs modes opératoires respectifs.

Pour finir, l'utilisation du diagnostic virologique de la culture cellulaire est mise en avant à travers l'ensemencement de quelques exemples de virus, à savoir : Le virus de la poliomyélite, du zona, de l'influenza et celui du covid-19. Ces exemples aident à l'orientation de la conclusion de ce mémoire qui est que malgré l'évolution des méthodes de diagnostic virologique, la culture cellulaire reste jusqu'à aujourd'hui, la méthode de référence de cette pratique.

Mots clés : Culture cellulaire, diagnostic virologique direct , méthode de référence.

Encadré par : Pr . Allag Hamoudi

Année Universitaire : 2021 – 2022



Les noms : Bellir Ines, Boudjefdjouf Zakia Yamsine,
Bouherid Anissa et Lakat Maroua



Titre : Intérêt de la culture cellulaire dans le diagnostic
virologique direct

Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de docteur en Pharmacie

Abstract

Cell culture is a process by which cells reproduce outside their natural environment, i.e. in-vitro under ideal conditions for their culture. This method has quickly been used in virological diagnosis since the beginning of the 1950s and has established itself as the reference method. Cell culture has proven its importance in the conservation of valuable viral strains and the production of vaccines, but has also proven its importance in the medical world (clinical research).

The purpose of this work is to determine the importance of cell culture with the help of the consultation of 67 documents as well as a participation in an internship at the Biotechnology Research Center (Constantine). This thesis deals with all the basics of cell culture : the cell lines used, the method of their seeding and culture, their conservation; while going through the culture media, contaminants and the equipment necessary for this meticulous activity.

The purpose of this work is also to highlight the innumerable qualities of cell culture in virological diagnosis through four chapters , while going through the basic notions of the virus, its composition and its mode. of replication. The enumeration of the confirmatory diagnoses in the most appropriate order is also mentioned, as well as the explanations of their respective operating methods.

Finally, the use of virological diagnosis of cell culture is highlighted through the seeding of some examples of viruses, namely: The virus of poliomyelitis, shingles, influenza and that of covid-19 . These examples help to guide the conclusion of this dissertation, which is that despite the evolution of virological diagnostic methods, cell culture remains, until today, the reference method for this practice.

Mots clés : Cell culture, virological diagnosis direct, reference method

Encadré par : Pr . Allag Hamoudi

Année Universitaire : 2021 – 2022



Les noms : Bellir Ines, Boudjefdjouf Zakia Yamsine,

Bouherid Anissa et Lakat Maroua

Titre : Intérêt de la culture cellulaire dans le diagnostic

virologique direct



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de docteur en Pharmacie

ملخص

زراعة الخلايا هي عملية تتكاثر بها الخلايا خارج بيئتها الطبيعية ، أي في المختبر في ظل ظروف مثالية. تم استخدام هذه الطريقة بسرعة في التشخيص الفيروسي منذ بداية الخمسينيات وأثبتت نفسها كأسلوب مرجعي. أثبتت زراعة الخلايا أهميتها في الحفاظ على السلالات الفيروسية القيمة وإنتاج اللقاحات ، و أثبتت أيضاً أهميتها في عالم الطب (الأبحاث السريرية).

الغرض من هذا العمل هو تحديد أهمية زراعة الخلايا بعد تحليل 67 وثيقة والمشاركة في تدريب داخلي في مركز أبحاث التكنولوجيا الحيوية (قسنطينة). تتناول هذه الرسالة كل ما هو ضروري لاستنبات الخلايا: خطوط الخلايا المستخدمة ، وطريقة بذرها و، وحفظها ؛ أثناء المرور عبر وسائط ، وملوثاتها والمعدات اللازمة لهذا النشاط الدقيق. الغرض من هذا العمل هو أيضاً تسليط الضوء على الصفات التي لا حصر لها زراعة الخلية في التشخيص الفيروسي من خلال أربعة فصول، أثناء استعراض المفاهيم الأساسية للفيروس وتكوينه وطريقة تكراره. كما تم ذكر تعداد التشخيصات المؤكدة بالترتيب الأنسب ، بالإضافة إلى تفسيرات طرق التشغيل الخاصة بكل منها. أخيراً ، تم تسليط الضوء على استخدام التشخيص الفيروسي للزراعة الخلية من خلال نثر بعض أمثلة الفيروسات ، وهي: فيروس شلل الأطفال ، والقوباء المنطقية ، والإنفلونزا ، وفيروس كوفيد 19-تساعد هذه الأمثلة في توجيه استنتاج هذه الرسالة ، وهو أنه على الرغم من تطور طرق التشخيص الفيروسي ، تظل زراعة الخلية ، حتى يومنا هذا ، الطريقة المرجعية لهذه الممارسة.

Mots clés : زراعة الخلايا, التشخيص الفيروسي المباشر, طريقة مرجعية

Encadré par : Pr . Allag Hamoudi

Année Universitaire : 2021 – 2022